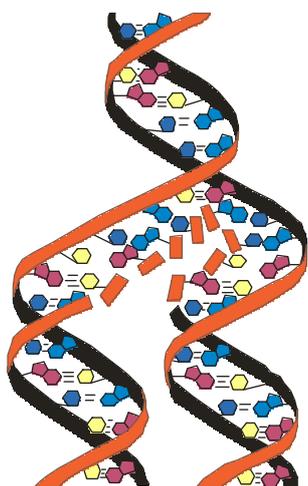


*Академія медичних наук України
Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського
Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця
Українська Академія наук національного прогресу*

МЕДИЧНА ХІМІЯ

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ



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

MEDICAL CHEMISTRY

SCIENTIFIC JOURNAL

1 TOM 6
2004

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

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

МЕДИЧНА ХІМІЯ

Науковий журнал

MEDICAL CHEMISTRY

Scientific Journal

ISSN 1681-2557

Виходить з 1999 року
Published since 1999

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

Передплатний індекс: 22869
Subscription index: 22869

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

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

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

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

Tel.: (0352) 22-97-29
(0352) 25-47-84
Fax: (0352) 22-41-83
E-mail: korda@tdma.edu.te.ua
http://tdma.edu.te.ua

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

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

Зміст

Contents

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Вороніна Л.М., Загайко А.Л., Стрельченко К.В. (Харків) ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ АНТИОКСИДНО-ПРООКСИДНОГО СТАТУСУ ЛІПОПРОТЕЇНІВ ПЛАЗМИ КРОВІ ТА ЦИТОЗОЛЮ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПРИ ВВЕДЕННІ ХЛОРИДУ МЕРКУРІЮ ТА L-ТРИПТОФАНУ

5

Гонський Я.І., Головка Л.Л. (Тернопіль) СТАН ЗАХИСНИХ СИСТЕМ ОРГАНІЗМУ ЗА УМОВ ПОЄДНАНОЇ ДІЇ СОЛЕЙ КАДМІЮ ТА СВИНЦЮ

10

Качула С.О., Герич О.Х., Пентюк О.О. (Вінниця) ВПЛИВ ІНГІБІТОРІВ НА АКТИВНІСТЬ МЕТАБОЛІЗУЮЧИХ ФЕРМЕНТІВ І ТОКСИЧНІСТЬ БРОМБЕНЗОЛУ ТА ТЕТРАХЛОРЕТАНУ У ЩУРІВ

14

Кучменко О.Б. (Київ) ВПЛИВ АМАРАНТОВОЇ ОЛІЇ НА АКТИВНІСТЬ ТКАНИННОГО ТРОМБОПЛАСТИНУ СЕРЦЯ ЗА УМОВ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ

19

Панасенко О.І. (Запоріжжя) ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ НА ДІЮ БАРБІТУРАТІВ S-ПОХІДНИХ 1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОНУ ТА ПОХІДНИХ ТІАЗОЛ (3,2-в)-1,2,4-ТРИАЗОЛУ

23

Недзвецкий В.С., Неруш П.О. (Дніпропетровськ) ВПЛИВ ПОСТІЙНОГО ОСВІТЛЕННЯ І МЕЛАТОНІНУ НА БІЛОК ГЛІАЛЬНИХ ПРОМІЖНИХ ФІЛАМЕНТІВ У РІЗНИХ ВІДДІЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ

27

Великая Н.В., Ципріяні В.І., Брюзгіна Т.С. (Київ) ОЦІНКА ЛІПІДНОГО КОМПЛЕКСУ СИРОВАТКИ КРОВІ Й ЖОВЧІ ПРИ ТОКСИЧНИХ УРАЖЕННЯХ ПЕЧІНКИ

33

Русанова С.В., Яковлева Л.В., Шаповал О.М., Коваленко С.М. (Харків) ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ 2-(4-КАРБОМОЙЛ-ФЕНІЛІМІНО)-2Н-ХРОМЕН-3-КАРБОКСАМІДІВ

36

Сусліа О.Б. (Тернопіль) ВІКОВІ ЗМІНИ МЕТАБОЛІЗМУ В СЕРЦЕВОМУ М'ЯЗІ ЩУРІВ У ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ АДРЕНАЛІНОВОЇ МІОКАРДІОДИСТРОФІЇ

41

Беленічев І.Ф., Коваленко С.І., Нестерова Н.О., Карпенко О.В. (Запоріжжя) ПОШУК ЦИТОСТАТИКІВ З АНТИОКСИДНИМ МЕХАНІЗМОМ ДІЇ СЕРЕД ПОХІДНИХ 4-ГІДРАЗІНОХІНАЗОЛІНУ

48

Філімонова Л.А. (Дніпропетровськ) ГЛАДЕНЬКОМ'ЯЗОВІ КЛІТИНИ У ВНУТРІШНІХ ВІДДІЛАХ СЕРЦЯ ЩУРІВ І КУРЕЙ

53

Кузнєцова В.Ю., Кисличенко В.С. (Харків) ПОЛІФЕНОЛЬНІ СПОЛУКИ ВІНОГРАДУ КУЛЬТУРНОГО

59

Кулагіна М.А., Радько О.В., Сербін А.Г., Сіра Л.М. (Харків) ГІСТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СТЕБЕЛ І ЛИСТЯ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДІВ ALNUS І DUSCHEKIA

64

ORIGINAL INVESTIGATIONS

Voronina L.M., Zagaiko A.L., Strel'chenko K.V. (Kharkiv) SOME PARAMETERS OF LIPOPROTEIN ANTIOXIDATIVE-PROOXIDATIVE STATUS IN BLOOD SERUM AND LIVER CYTOSOL UNDER MERCURY CHLORIDE AND L-TRYPTOPHAN ADMINISTRATION

Honsky Ya.I., Holovko L.L. (Ternopil) THE STATE OF THE PROTECTIVE SYSTEMS OF ORGANISM ON CONDITIONS OF COMBINED INTRODUCTION OF CADMIUM SALTS AND LEAD

Kachula S.O., Gerych O.H., Pentiuk O.O. (Vinnytsia) INFLUENCE OF INHIBITORS ON ACTIVITY OF METABOLIZING EYZMES AND TOXICITY OF BROM-BENZENE AND TETRACHLORMETHANE AT RATS

Kuchmenko O.B. (Kyiv) THE INFLUENCE OF AMARANTHUS OIL ON ACTIVITY OF HEART TISSUE THROMBOPLASTIN UNDER IMMOBILIZING STRESS

Panasenko O.I. (Zaporizhzhia) THE STUDY OF INFLUENCE OF 1,2,4-TRIAZOLE-3-THION S-DERIVATIVES AND THIAZOLE (3,2-B)-1,2,4-TRIAZOLE DERIVATIVES ON THE ACTION OF BARBITURATES

Nedzvetsky V.S., Nerush P.A. (Dnipropetpovsk) THE EFFECT OF CONSTANT LIGHT AND MELATONIN ON PROTEIN OF GLIAL INTERMEDIATE FILAMENTS IN DIFFERENT REGIONS OF RAT BRAIN

Velikaya N.V., Tsypryan V.I., Briuzgina T.S. (Kyiv) ESTIMATION OF BLOOD SERUM AND BILE LIPID COMPLEX AT TOXIC HEPATIC INJURIES

Rusanova S.V., Yakovleva L.V., Shapoval O.M., Kovalenko S.M. (Kharkiv) BIOLOGICAL ACTIVITY OF DERIVATIVES OF 2-(4-CARBOMOYLPHENYLIMINO)-2H-CHROMENE-3-CARBOXAMIDES

Susla O.B. (Ternopil) AGE CHANGES IN METABOLISM OF HEART MUSCLE IN RATS VIEWED IN DYNAMICS OF EPINEPHRINE MYOCARDIAL DYSTROPHY DEVELOPMENT

Bielenichev I.F., Kovalenko S.I., Nesterova N.O., Karpenko O.V. (Zaporizhzhia) SEARCH OF CYTOSTATICS WITH ANTIOXIDANT MECHANISM OF ACTION AMONG DERIVATIVES OF 4-HYDRAZINOQUINAZOLINE

Filimonova L.A. (Dnipropetrovsk) SMOOTH MUSCULAR CELLS IN THE INTERNAL PARTS OF HEART OF RATS AND CHICKS

Kuznetsova V.Yu., Kyslychenko V.S. (Kharkiv) POLYPHENOLIC COMPOUNDS OF VINE CULTURAL

Kulagina M.A., Rad'ko O.V., Serbin A.G., Sira L.M. (Kharkiv) HISTOCHEMICAL STUDY OF STEMS AND LEAVES OF ALNUS AND DUSCHEKIA GENUS REPRESENTATIVE

<i>Ростока Л.М.</i> (Ужгород) ВПЛИВ ЙОДОФТОРНОГО ДЕФІЦИТУ НА ФОРМУВАННЯ РЕЗЕРВІВ СЕРЕДНЬОМОЛЕКУЛЯРНИХ ПЕПТИДІВ У БІЛИХ ЩУРІВ ТА КОРЕКЦІЯ	68	<i>Rostoka L.M.</i> (Uzhhorod) THE INFLUENCE OF IODINE-FLUORINE DEFICIENCY ON THE FORMATION OF MEDIUM MOLECULE PEPTIDES RESERVES AND THEIR CORRECTION IN WHITE RATS
<i>Олійник Е.В., Мешишен І.Ф., Плачінта О.В.</i> (Чернівці) ПОКАЗНИКИ ПРО- ТА АНТИОКСИДНОГО СТАНУ ШЛУНКА ЩУРІВ ЗА УМОВ ДІЇ РАДІАЦІЇ ТА МЕЛАТОНІНУ	73	<i>Oliyynk E.V., Meshchysheh I.F., Plachinta O.V.</i> (Chernivtsi) THE INDICES OF PRO- AND ANTIOXIDANT STATE OF RAT STOMACH UNDER CONDITIONS OF RADIATION AND MELATONIN ACTION
<i>Васюк С.О., Алтунін М.Л., Петренко В.В.</i> (Запоріжжя) СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАЦЕТАМОЛУ В ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ	77	<i>Vasiuk S.O., Altunin M.L., Petrenko V.V.</i> (Zaporizhzhia) SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF PARACETAMOL IN PHARMACEUTICALS
<i>Панас Н.Е.</i> (Львів) ВПЛИВ ГОСТРОЇ ГІПОКСІЇ НА ДЕЯКІ ЛАНКИ МЕТАБОЛІЗМУ ГЛЮКОЗИ В ЕРИТРОЦИТАХ БІЛИХ ЩУРІВ	81	<i>Panas N.E.</i> (Lviv) INFLUENCE OF ACUTE HYPOXIA ON SOME LINKS OF GLUCOSE METABOLISM IN RED BLOOD CELLS OF WHITE RATS
<i>Кучма І.Л.</i> (Київ) СТАН ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ ПРИ АНЕМІЇ У ХВОРИХ ІЗ ХРОНІЧНОЮ НИРКОВОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ, ЯКІ ПЕРЕБУВАЛИ НА ПРОГРАМНОМУ ГЕМОДІАЛІЗИ	85	<i>Kuchma I.L.</i> (Kyiv) LIPID PEROXIDATION CONDITION IN ANEMIC PATIENTS WITH CHRONIC RENAL FAILURE WHICH ARE PRESENTED AT PROGRAM HEMODIALYSIS
<i>Олійник О.В.</i> (Тернопіль) ОБМІН КАЛЬЦІЮ ТА ЕФЕКТИВНІСТЬ БРОНХОЛІТИЧНИХ ЗАСОБІВ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНІ ОБСТРУКТИВНІ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ	88	<i>Oliyynk O.V.</i> (Ternopil) CALCIUM METABOLISM AND EFFECTIVENESS OF BRONCHOLYTIC MEDICINES IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASES
<i>Юкало В.Г.</i> (Тернопіль) УТВОРЕННЯ КАЗОКІНІНІВ У МОДЕЛЬНОМУ ПРОТЕОЛІЗИ α_{s1} -КАЗЕЇНУ	92	<i>Yukalo V.G.</i> (Ternopil) CASOKININS FORMATION DURING THE MODEL α_{s1} -CASEIN PROTEOLYSIS
КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ		BRIEF REPORTS
<i>Потіха Н.Я.</i> (Тернопіль) ВМІСТ АЦЕТИЛХОЛІНУ В МІОКАРДІ СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ГІПОТИРЕОЗОМ	96	<i>Potikha N.Ya.</i> (Ternopil) ACETYLCHOLINE CONTENTS IN THE MYOCARDIUM OF THE SEXUALLY NONMATURE RATS WITH EXPERIMENTAL HYPOTHYROIDISM
<i>Жигулович З.Є., Яковлева І.Ю., Брюзгіна Т.С.</i> (Київ) ВИВЧЕННЯ ПОРУШЕНЬ МЕТАБОЛІЗМУ ЕСЕНЦІАЛЬНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ ЛІПІДІВ СЛИНИ У ПІДЛІТКІВ	100	<i>Zhygulovych Z.Ye., Yakovleva I.Yu., Briuzgina T.S.</i> (Kyiv) INVESTIGATION OF DISTURBANCES OF METABOLISM OF ESSENTIAL FATTY ACIDS BREACH OF TEENAGER SALIVA LIPIDS
<i>Москаленко Т.Я., Гоженко А.І.</i> (Одеса) ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ ГОМЕОСТАЗУ У ВАГІТНИХ З ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ, ВИКЛИКАНОЮ ЗАГРОЗОЮ ПЕРЕРИВАННЯ НА ТЛІ КУРІННЯ	103	<i>Moskalenko T.Ya., Gozhenko A.I.</i> (Odesa) SOME HOMEOSTASIS PARAMETERS IN PREGNANT WOMEN WITH FETOPLACENTAL INSUFFICIENCY, INDUCED BY THE THREAT OF PREGNANCY INTERRUPTION AGAINST A BACKGROUND OF SMOKING
МЕТОДИ БІОХІМІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ		METHODS OF BIOCHEMICAL INVESTIGATIONS
<i>Поляк О.Б., Бондар В.С.</i> (Харків) ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА МЕТОДІВ ВИДІЛЕННЯ ЛОРАТАДИНУ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ	106	<i>Polyak O.B., Bondar V.S.</i> (Kharkiv) COMPARATIVE ESTIMATION OF METHODS OF LORATADINE ISOLATION FROM BIOLOGICAL MATERIAL
ОГЛЯДИ		REVIEWS
<i>Гонський Я.І., Максимчук Т.П.</i> (Тернопіль, Івано-Франківськ) БІОХІМІЧНІ АСПЕКТИ ДІЇ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ. II. МОДУЛЯЦІЇ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ, ТРАНСПОРТНИХ І СТРУКТУРНИХ БІЛКІВ, БІОМОЛЕКУЛ НЕБІЛКОВОЇ ПРИРОДИ	111	<i>Honsky Ya.I., Maksymchuk T.P.</i> (Ternopil, Ivano-Frankivsk) BIOCHEMICAL ASPECTS OF DRUG ACTION. II. MODULATIONS OF ENZYME ACTIVITY, TRANSPORTING AND STRUCTURAL PROTEINS, BIOMOLECULES OF INPROTEIN NATURE
<i>Андрейчин С.М., Швалюк М.І.</i> (Тернопіль) МЕДИЧНІ АСПЕКТИ ПРОБЛЕМИ ОСТЕОПОРОЗУ	117	<i>Andreychyn S.M., Shvalyuk M.I.</i> (Ternopil) MEDICAL ASPECTS OF THE PROBLEM OF OSTEOPOROSIS

УДК 577.125:57.044:57.016.6

ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ АНТИОКСИДНО-ПРООКСИДНОГО СТАТУСУ ЛІПОПРОТЕЇНІВ ПЛАЗМИ КРОВІ ТА ЦИТОЗОЛЮ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПРИ ВВЕДЕННІ ХЛОРИДУ МЕРКУРІЮ ТА L-ТРИПТОФАНУ

Л.М. Вороніна, А.Л. Загайко, К.В. Стрельченко
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ.

Вивчено деякі показники антиоксидно-прооксидного статусу фракцій апоВ-вмісних та α -ліпопротеїнів сироватки крові й апоВ-вмісних ліпопротеїнів цитозолю печінки щурів, а також вміст відновленого глутатіону в печінці при введенні лише хлориду меркурію ($HgCl_2$) або хлориду меркурію на фоні попереднього введення L-триптофану. В ліпопротеїнах як сироватки крові, так і цитозолю печінки виявлено підвищення рівня первинних і вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів та зниження вмісту α -токоферолу через 2 год після введення $HgCl_2$. Рівень відновленого глутатіону знижується через 2 год і підвищується через 24 год після ін'єкції солі меркурію. Попереднє введення L-триптофану не запобігає окис ним модифікаціям ліпопротеїнів, які спричинені введенням $HgCl_2$. Обговорюються механізми активації перекисного окиснення ліпопротеїнів та роль вільного гему в окисному пошкодженні ліпопротеїнів при введенні хлориду меркурію.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: хлорид меркурію, ліпопротеїни, перекисне окиснення ліпідів, L-триптофан, оксидативний стрес.

ВСТУП. Меркурій є одним з металів, які широко застосовують у різних галузях промисловості та медицини, що є причиною значного його накопичення в навколишньому середовищі [10]. Відомо, що надходження в організм ссавців солей важких металів спричиняє активацію вільнорадикальних процесів, що за умов зниження активності системи антиоксидного захисту може призвести до окисних пошкоджень клітинних компонентів та розвитку оксидативного стресу [20, 21]. За умов оксидативного стресу для організму є важливим збереження структурно-функціонального статусу біологічних мембран. При цьому важливим є також захист ліпопротеїнів плазми крові як основної транспортної форми ліпідів від окисного пошкодження. Встановлено, що іони деяких металів, зокрема кобальту та кадмію, спричиняють значні зміни в антиоксидно-прооксидному статусі ліпопротеїнів [2, 3, 5]. При цьому механізми окисних пошкоджень ліпопротеїнів, а також можливі засоби корекції цих порушень залишаються невивченими.

Передбачається, що одним з механізмів розвитку оксидативного стресу при введенні

© Л.М. Вороніна – д.біол.н., проф., А.Л. Загайко – к.біол.н., К.В. Стрельченко – к.біол.н., 2004.

$HgCl_2$ є лізис еритроцитів та накопичення прооксиданта – вільного гему в крові й печінці [4]. Спроможність вільного гему спричиняти окисні пошкодження ліпопротеїнів встановлено в ряді робіт [11, 14]. Таким чином, зв'язування вільного гему за рахунок індукції гемозв'язувальних білків може бути одним із способів захисту ліпопротеїнів цитозолю печінки, які є попередниками ліпопротеїнів плазми крові.

Метою даної роботи було вивчення деяких показників антиоксидно-прооксидного статусу ліпопротеїнів плазми крові та печінки за умов введення хлориду меркурію, а також солі цього металу на фоні попереднього введення триптофану, який є індуктором синтезу цитозольного гемозв'язувального білка печінки – триптофан-2,3-діоксигенази [15].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі використовували щурів-самців лінії Вістар масою 150-180 г. $HgCl_2$ вводили одноразово в дозі 0,7 мг на 100 г маси тіла внутрішньоочеревинно. Контрольній групі тварин вводили відповідний об'єм фізіологічного розчину. L-Триптофан вводили одноразово в дозі 20 мг на 100 г маси тіла внутрішньоочеревинно за 2 год до введення солі меркурію [15].

Після декапітації анестезованої хлоралозо-уретановим наркозом тварини печінку перфузували холодним середовищем виділення і гомогенізували у гомогенізаторі Поттера на льоду. Цитозольну фракцію печінки отримували шляхом диференційного центрифугування.

Фракції α -ЛП (ліпопротеїнів високої густини, ЛВГ) та апоВ-ЛП (ліпопротеїнів низької та дуже низької густини, ЛНГ+ЛДНГ) розділяли шляхом центрифугування сироватки крові та цитозолу печінки, до яких попередньо додавали розчини гепарину та CaCl_2 в присутності ЕДТА. Вимірювали оптичну густину гептан-ізопропанольних екстрактів вказаних фракцій при довжині хвилі 220 нм (для ізольованих подвійних зв'язків), 232 нм (для дієнових кон'югат), 278 нм (для кетодієнів та сполучених триєнів) [1]. Вміст загальних гідропероксидів визначали за реакцією з тіоціанатом амонію [8]. Кількість α -токоферолу – за кольоровою реакцією з двовалентним ферумом; до результатів визначення вносили поправку на присутність холестеролу [6]. Вміст відновленого глутатіону (GSH) в печінці визначали спектрофотометрично за поглинанням комплексу з алоксаном при довжині хвилі 305 нм і виражали в мкмоль на 1 мг тканини [7].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням Х-критерію Ван-дер-Вардена.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Введення хлориду HgCl_2 призводить до активації процесів вільнорадикального окиснення в ліпопротеїнах плазми крові. Про це свідчить підвищення вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) – дієнових кон'югатів та загальних гідропероксидів в обох досліджуваних фракціях ліпопротеїнів (табл. 1). Так, через 2 год після введення солі ртуті вміст дієнових кон'югатів у фракціях апоВ-ЛП складав 126 % від контрольного рівня, а у фракції α -ЛП – 136 %. Рівень загальних гідропероксидів у фракціях апоВ-ЛП та α -ЛП у цей час становив, відповідно, 116 та 126 % від контролю (табл. 1). У фракції α -ЛП відмічено також зниження вмісту α -токоферолу (на 37 % від контролю) та кількості ізольованих подвійних зв'язків (на 40 % від контролю) (табл. 1). Через добу всі ці показники не відрізнялись від контрольних значень (табл. 1). Більша чутливість α -ЛП (ЛВГ) до окисних пошкоджень при введенні HgCl_2 може бути пов'язана з високим рівнем у цій фракції ліпопротеїнів фосfolіпідів, які містять ненасичені жирні кислоти [5].

Але найбільших окисних пошкоджень за умов дії HgCl_2 зазнавали ліпопротеїни цитозолу

печінки. Як видно з таблиці 2, через 2 год після введення солі металу вміст дієнових кон'югатів у ліпопротеїнах печінки становив 160 % від контрольного рівня, кетодієнів та сполучених триєнів – 192 %, загальних гідропероксидів – 123 %. Вміст α -токоферолу при цьому значно знижувався (табл. 2). Через добу після введення хлориду ртуті всі ці показники не відрізнялись від контрольного рівня (табл. 2).

Отримані дані вказують на значні зміни в антиоксидно-прооксидному статусі ліпопротеїнів сироватки крові й печінки при введенні HgCl_2 , що свідчить про розвиток оксидативного стресу. Спроможність іонів ртуті активувати процеси вільнорадикального окиснення встановлено у ряді робіт [12, 16, 17]. Іони ртуті не беруть безпосередньої участі в окисно-відновних реакціях, але, маючи високу спорідненість із сульфгідрильними групами, зменшують у клітинах вміст GSH [12, 20]. Це призводить до накопичення в клітинах таких активних метаболітів кисню, як супероксидний аніон-радикал, пероксид гідрогену та гідроксил-радикал [20].

Нами встановлено, що через 2 год після введення HgCl_2 в печінці спостерігалось зниження вмісту GSH, а через добу цей показник перевищував контрольний рівень (контроль – $3,87 \pm 0,21$; HgCl_2 (2 год) – $1,89 \pm 0,18^*$; HgCl_2 (24 год) – $5,46 \pm 0,64^*$; * – $p < 0,05$ відносно контролю). Відомо, що за умов стресу значна частка GSH переноситься з печінки в інші органи, що може зумовлювати збільшення його вмісту в плазмі крові. Підвищення рівня GSH у печінці та плазмі крові, ймовірно, забезпечує гальмування вільнорадикальних процесів, що пояснює нормалізацію показників ПОЛ у ліпопротеїнах через добу після ін'єкції солі ртуті (табл. 1, 2).

Окисні модифікації ліпопротеїнів мають важливе значення у виникненні патологічних станів, що супроводжують розвиток оксидативного стресу. Зокрема, існує велика кількість даних щодо значної ролі окисномодифікованих ліпопротеїнів у процесах атерогенезу [13, 18]. Тому дуже важливим є пошук засобів запобігання появі окисномодифікованих ліпопротеїнів за умов дії на організм пошкоджувальних чинників.

Раніше було встановлено, що введення хлориду ртуті зумовлює накопичення вільного гемі в крові та клітинах печінки за рахунок лізису еритроцитів та деградації внутрішньоклітинних гемопропротеїнів [4]. Присутність у плазмі крові та клітинах великої кількості вільного гемі є, мабуть, причиною активації перекисних процесів в ліпопротеїнах [11, 14].

Таким чином, можна припустити, що зв'язування вільного гемму в печінці за рахунок індукції гемозв'язувальних білків – один із способів захисту ліпопротеїнів клітин цього органа від окисного пошкодження. Одним з білків, що здатний зв'язувати вільний гем у гепатоцитах, є триптофан-2,3-діоксигеназа. В печінці щурів цей фермент існує у двох формах – у вигляді активного холоферменту (зв'язана з гемом форма) та апоферменту, який може зв'язувати надлишок вільного гемму в гепатоцитах [19]. Раніше було показано, що введення щурам L-триптофану призводить до збільшення активності апоферменту триптофан-2,3-діоксигенази, а також попереджує накопичення в

клітинах печінки вільного гемму за умов введення хлориду меркурію [9, 15, 19].

Надалі з метою встановлення ролі вільного гемму в окисному пошкодженні ліпопротеїнів за умов введення хлориду меркурію досліджували вплив попереднього введення L-триптофану на показники антиоксидно-прооксидного статусу ліпопротеїнів печінки та сироватки крові.

Як видно з даних, наведених у таблицях 1, 2, попереднє введення L-триптофану не запобігає окисним модифікаціям ліпопротеїнів, викликаним введенням хлориду меркурію. При цьому в ході паралельних дослідів було встановлено, що L-триптофан повністю попереджує накопичення вільного гемму в клітинах

Таблиця 1 – Деякі показники перекисного окиснення ліпідів і вміст α -токоферолу в фракціях апоВ-ЛП та α -ЛП сироватки крові щурів при введенні HgCl_2 або HgCl_2 на фоні попереднього введення L-триптофану ($M \pm m$, $n=6$)

Параметри	Контроль	2 год		24 год	
		HgCl_2	L-триптофан + HgCl_2	HgCl_2	L-триптофан + HgCl_2
АпоВ-ЛП					
Ізольовані подвійні зв'язки, $\Delta\text{E}/\text{мл}$	4,29 \pm 0,41	3,22 \pm 0,31	3,77 \pm 0,34	4,18 \pm 0,33	3,98 \pm 0,35
Дієнові кон'югати, нмоль/мл	15,76 \pm 0,93	19,61 \pm 0,73*	19,55 \pm 0,84*	18,22 \pm 1,75	16,31 \pm 1,55
Кетодієни та сполучені триєни, $\Delta\text{E}/\text{мл}$	1,92 \pm 0,16	2,53 \pm 0,24	2,59 \pm 0,25	2,03 \pm 0,21	1,83 \pm 0,15
Загальні гідропероксида, нмоль/мл	73,15 \pm 2,47	85,16 \pm 3,18*	87,29 \pm 2,87*	75,61 \pm 4,75	72,78 \pm 3,63
α -Токоферол, нмоль/мл	4,77 \pm 0,32	4,25 \pm 0,11	3,90 \pm 0,33	3,50 \pm 0,29	3,60 \pm 0,31
α -ЛП					
Ізольовані подвійні зв'язки, $\Delta\text{E}/\text{мл}$	5,69 \pm 0,37	4,05 \pm 0,27*	4,18 \pm 0,31*	5,25 \pm 0,33	5,69 \pm 0,41
Дієнові кон'югати, нмоль/мл	14,19 \pm 0,86	19,24 \pm 0,92*	19,58 \pm 1,54*	13,33 \pm 0,59	13,87 \pm 0,91
Кетодієни та сполучені триєни, $\Delta\text{E}/\text{мл}$	0,93 \pm 0,08	1,05 \pm 0,09	1,00 \pm 0,09	0,97 \pm 0,09	1,05 \pm 0,08
Загальні гідропероксида, нмоль/мл	50,03 \pm 1,14	63,24 \pm 4,15*	63,99 \pm 5,29*	55,44 \pm 2,11	57,24 \pm 3,59
α -Токоферол, нмоль/мл	9,98 \pm 0,74	6,26 \pm 0,50*	6,18 \pm 0,56*	8,77 \pm 0,81	7,93 \pm 0,88

Примітка. Тут і в наступній таблиці * – $p < 0,05$ відносно контролю.

Таблиця 2 – Деякі показники перекисного окиснення ліпідів і вміст α -токоферолу в фракціях апоВ-ЛП цитозолу печінки щурів при введенні HgCl_2 або HgCl_2 на фоні попереднього введення L-триптофану ($M \pm m$, $n=6$)

Параметри	Контроль	2 год		24 год	
		HgCl_2	L-триптофан + HgCl_2	HgCl_2	L-триптофан + HgCl_2
Ізольовані подвійні зв'язки, $\Delta\text{E}/\text{мл}$	1,950 \pm 0,015	1,99 \pm 0,17	1,89 \pm 0,18	1,98 \pm 0,17	1,90 \pm 0,18
Дієнові кон'югати, нмоль/мл	18,76 \pm 0,27	30,06 \pm 1,15*	30,15 \pm 2,89*	20,29 \pm 1,89	19,18 \pm 1,81
Кетодієни та сполучені триєни, $\Delta\text{E}/\text{мл}$	1,62 \pm 0,40	3,12 \pm 0,27*	3,09 \pm 0,31*	1,89 \pm 0,11	1,77 \pm 0,18
Загальні гідропероксида, нмоль/мл	49,86 \pm 0,99	62,18 \pm 2,44*	63,70 \pm 3,11*	52,36 \pm 3,41	50,07 \pm 2,24
α -Токоферол, нмоль/мл	2,76 \pm 0,11	1,00 \pm 0,09*	1,09 \pm 0,09*	2,54 \pm 0,18	2,69 \pm 0,22

печінки [9]. Останнє може свідчити про те, що активація ПОЛ в ліпопротеїнових частках відбувається за рахунок інших прооксидантів, крім вільного гему.

Враховуючи дані про зменшення в клітинах печінки вмісту основних неферментних антиоксидантів – GSH та α -токоферолу (табл. 2), можна припустити, що гальмування антиоксидної системи при введенні $HgCl_2$ є однією з причин активації вільнорадикальних процесів і, як наслідок, окисних модифікацій ліпопротеїнів. Згідно з даними роботи [9], L-триптофан не попереджує накопичення вільного гему в сироватці крові, яке спричинене введенням солі ртуті. Накопичення в крові вільного гему при сумісній дії L-триптофану і $HgCl_2$, очевидно, є причиною активації ПОЛ в ліпопротеїнових частках плазми крові (табл. 1). Відомо, що окисномодифіковані ліпопротеїни

можуть поглинатись з крові печінкою [18]. Останнє також може зробити внесок у підвищення рівня окисномодифікованих ліпопротеїнів у печінці (табл. 2).

ВИСНОВКИ. Отримані дані свідчать про те, що введення хлориду ртуті призводить до змін антиоксидно-прооксидного статусу ліпопротеїнів плазми крові та цитозолу печінки. Нормалізація рівня вільного гему в клітинах печінки за рахунок попереднього введення триптофану не запобігає окисним модифікаціям ліпопротеїнів. Однією з причин активації ПОЛ у ліпопротеїнах може бути гальмування антиоксидної системи захисту в крові та печінці. Останнє дає змогу припустити, що ефективно захистити ліпопротеїни від окисного пошкодження при дії солей металів можуть антиоксиданти.

ЛІТЕРАТУРА

1. 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. – № 1. – С. 127-131.
2. Загайко А.Л., Вороніна Л.М., Набока О.І. та інші. Вплив екстракту з листя винограду на показники перекисного окислення ліпідів у мишей та щурів на фоні дії хлориду кадмію // Клін. фармація. – 2003. – 7, № 1. – С. 46-49.
3. Калиман П.А., Загайко А.Л., Шаламов Р.В. и др. Содержание и состав липопротеинов крови и печени крыс и некоторые показатели окислительного стресса при введении хлорида кобальта // Укр. биохим. журн. – 1997. – 69, № 5-6. – С. 138-148.
4. Калиман П.А., Никитченко И.В., Сокол О.А., Стрельченко Е.В. Регуляция гемоксигеназной активности в печени крыс в условиях окислительного стресса, вызванного хлоридом кобальта и хлоридом ртути // Биохимия. – 2001. – 66, № 1. – С. 72-82.
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, № 2. – С. 850-857.
6. Кибардин С.А. Определение витамина Е в сыворотке крови // Биохимия. – 1951. – 16. – С. 511-514.
7. Путилина Ф.Е. Определение содержания восстановленного глутатиона в тканях // Методы биохимических исследований / Под ред. М.И. Прохоровой. – 1982. – С. 183-185.
8. Романова Л.А., Стальная И.Д. Метод определения гидроперекисей липидов с помощью тиоцианата аммония // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 64-66.
9. Сокол О.А. Влияние предварительного введения L-триптофана на содержание цитохрома P-450 и триптофан-2,3-диоксигеназную активность в печени крыс при окислительном стрессе, вызванном хлоридом кобальта или хлоридом ртути // Труды науч. конф. "Научное наследие академика И.Н. Буланкина и его развитие в современной биохимии". – Харьков, 2001. – С. 78-80.
10. Трахтенберг И.М., Колесников В.С., Луковенко В.П. Тяжелые металлы во внешней среде: современные источники и токсикологические аспекты. – Минск: Наука техника, 1994. – 285 с.
11. Camejo G., Halberg C., Manschik-Lundin A. et al. Hemin binding and oxidation of lipoproteins in serum: mechanisms and effect on the interaction of LDL with human macrophages // The Journal of Lipid Research. – 1998. – 39. – P. 755-766.
12. Dasgupta A., Zdunek T., Peng Y. Differential effects of transition metal ions on in vitro lipid peroxidation of human serum and protein precipitated from serum // Clin. Physiol. Biochem. – 1992. – 9, № 1. – P. 7-10.
13. Dutta A., Sudhir K., Dutta M. Vitamin E and its role in the prevention of atherosclerosis and carcinogenesis: A review // Journal of the American College of Nutrition. – 2003. – 22, № 4. – P. 258-268.
14. Jeney V., Balla J., Yachie A. et al. Pro-oxidant and cytotoxic effects of circulating heme // Blood. – 2002. – 100, № 3. – P. 879-887.
15. Kaliman P.A., Manandhar S.P. The effect of tryptophan on the phenobarbital-mediated induction of cytochrome P-450 in rat liver. The role of tryptophan-2,3-dioxygenase // Biomed. Sci. – 1991. – 2. – P. 232-238.

16. Lin T., Huang Y., Huang S. Lipid peroxidation in liver of rats administrated with methyl mercuric chloride // Biol. Trace Elem. Res. – 1996. – **54**, № 1. – P. 33-41.

17. Lund B., Miller D., Woods J. Studies on Hg(II)-induced H₂O₂ formation and oxidative stress in vivo and in vitro in rat kidney mitochondria // Biochem. Pharmacol. – 1993. – **45**, № 10. – P. 14-17.

18. Neuzil J., Julie K., Christison J. et al. Radical-induced lipoprotein and plasma lipid oxidation in normal and apolipoprotein E gene knockout (apoE^{-/-}) mice: apoE^{-/-} mouse as a model for testing the role of

tocopherol-mediated peroxidation in atherogenesis / J. Lipid Res. – 1998. – **3**. – P. 354-368.

19. Sadler E.M., Weiner M., Buterbaugh G.G. Activation of liver tryptophan oxygenase by hydrocortisone, hematine and tryptophan in streptozotocin-diabetic rats // Life Sci. – 1984. – **34**. – P. 1365-1370.

20. Stohs S.J., Bagchi D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions // Free Radic. Biol. Med. – 1995. – **18**, № 2. – P. 321-336.

21. Sunderman F.W.Jr. Metals and lipid peroxidation // Acta Pharmacol. Toxicol. – 1986. – **59**, № 7. – P. 248-255.

НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ АНТИОКСИДНО-ПРООКСИДНОГО СТАТУСА ЛИПОПРОТЕИНОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ И ЦИТОЗОЛЯ ПЕЧЕНИ ПРИ ВВЕДЕНИИ ХЛОРИДА МЕРКУРИЯ И L-ТРИПТОФАНА

Л.Н. Воронина, А.Л. Загайко, Е.В. Стрельченко
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Изучены некоторые показатели антиоксидно-прооксидного статуса фракций apoB-содержащих и α -липопротеинов сыворотки крови и apoB-содержащих липопротеинов цитозоля печени крыс, а также содержание восстановленного глутатиона в печени при введении только хлорида ртути или хлорида ртути (HgCl₂) на фоне предварительного введения L-триптофана. В липопротеинах как сыворотки крови, так и цитозоля печени выявлено повышение уровня первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов и снижение содержания α -токоферола через 2 ч после введения HgCl₂. Уровень восстановленного глутатиона снижается через 2 ч и повышается через 24 ч после инъекции соли ртути. Предварительное введение L-триптофана не предотвращает окислительные модификации липопротеинов, вызванные введением HgCl₂. Обсуждаются механизмы активации перекисного окисления липидов и роль свободного гема в окислительном повреждении липопротеинов при введении хлорида ртути.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хлорид ртути, липопротеины, перекисное окисление липидов, L-триптофан, окислительный стресс.

SOME PARAMETERS OF LIPOPROTEIN ANTIOXIDATIVE-PROOXIDATIVE STATUS IN BLOOD SERUM AND LIVER CYTOSOL UNDER MERCURY CHLORIDE AND L-TRYPTOPHAN ADMINISTRATION

L.M. Voronina, A.L. Zagaiko, K.V. Strel'chenko
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY

Summary

Some parameters of apoB-containing and α -lipoprotein antioxidative-prooxidative status in rat blood serum and apoB-containing lipoproteins of liver cytosole and reduced glutathione level in liver under mercury chloride and L-tryptophan administration have been investigated. In lipoproteins of both blood serum and liver cytosole the level of primary and secondary products of lipid peroxidation increased and α -tocopherol level decreased in 2 h after mercury chloride administration. The reduced glutathione level was decreased in 2 h and was increased in 24 h after HgCl₂ administration. Pre-administration of L-tryptophan didn't prevent lipoprotein oxidative modification caused by HgCl₂ injection. The mechanisms of lipid peroxidation activation and role of free heme in oxidative injure of lipoproteins are discussed.

KEY WORDS: mercury chloride, lipoproteins, lipid peroxidation, L-tryptophan, oxidative stress.

Отримано 05.02.2004 р.

Адреса для листування: А.Л. Загайко, кафедра біохімії Національного фармацевтичного університету, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.

СТАН ЗАХИСНИХ СИСТЕМ ОРГАНІЗМУ ЗА УМОВ ПОЄДНАНОЇ ДІЇ СОЛЕЙ КАДМІЮ ТА СВИНЦЮ

Я.І. Гонський, Л.Л. Головка

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Досліджено вплив роздільного та поєднаного введення хлоридів кадмію і свинцю на стан антиоксидної, детоксуючої систем та плазматичних мембран. Встановлено однонаправлену негативну дію кадмію та свинцю на показники антиоксидної системи, активність мікосомальних монооксигеназ, що призводило до зростання ендогенної інтоксикації і порушення проникності плазматичних мембран. При поєднаному застосуванні досліджуваних токсикантів спостерігався ефект сумачії.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: інтоксикація, солі кадмію та свинцю, захисні системи організму.

ВСТУП. За останні десятиріччя, у зв'язку з інтенсивним науково-технічним прогресом, значно зросло хімічне навантаження на біосферу, що призвело до виникнення нових форм патології людини та змін типового перебігу ряду захворювань [2, 3, 17]. Шкідливі викиди хімічних та інших промислових виробництв, внесення в ґрунт мінеральних добрив, широке використання хімії в побуті, екологічні катастрофи – далеко не весь перелік джерел токсикантів у повітрі, воді, їжі. Потрапляючи в організм людини, хімічні сполуки викликають ушкодження різних органів і тканин, у тому числі найважливіших біоструктур: мембран і генетичного апарату.

З усіх металів періодичної системи хімічних елементів кадмій визнано як один з найшкідливіших [3, 8]. Органами-мішенями для нього є нирки, печінка, статеві залози, трубчасті кістки, селезінка, еритроцити; він проявляє канцерогенні властивості, має здатність кумулюватися у тканинах [8, 12, 14, 16, 18, 21]. При потрапленні кадмію в організм тварин і людини відбувається активація процесів ліпопероксидації, що призводить до посиленого витрачання антиоксидантів у відповідь на утворення вільних радикалів. Важливим є те, що солі кадмію належать до класу "тіолових отрут", які блокують сульфгідрильні групи білків, у тому числі ферментів-антиоксидантів, пригнічуючи їх антиоксидантні властивості. Крім цього, солі кадмію можуть пригнічувати також амінні групи білків [12, 15, 19, 20]. У ряді робіт є повідомлення, що кадмій може значною мірою змінювати метаболізм і вміст в організмі таких есенці-

© Я.І. Гонський – д.мед.н., проф., Л.Л. Головка, 2004.

альних елементів, як цинк, залізо, мідь, марганець, кальцій, селен [8, 14, 18, 22, 23]. Не менш небезпечним, з точки зору його токсичної дії на організм, є також свинець [3, 23], який широко розповсюджений у хімічній, автомобільній промисловості, а також побуті (він міститься у сірниках, деяких фарбах). Свинець також є "тіоловою отрутою", однак організмишені у нього дещо інші: нервова система, кров, кровотворні органи.

У літературі є значна кількість досліджень, що стосуються механізмів токсичної дії солей кадмію та свинцю. Однак робіт, в яких було б досліджено поєднану дію цих двох токсикантів, дуже мало [12, 23], хоча такі поєднання бувають досить часто. Зважаючи на це, ми поставили собі за мету дослідити стан захисних систем (антиоксидантної, мікосомної) за умов поєднаної дії солей кадмію та свинцю.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводилися на 60 білих нелінійних щурах-самцях масою 170-200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Токсичне ураження солями кадмію та свинцю викликали шляхом одноразового внутрішньошлункового введення тваринам водного розчину хлориду кадмію в дозі 6 мг/кг маси тіла та хлориду свинцю в дозі 6,5 мг/кг (1/15 LD₅₀). Піддослідних щурів поділили на 4 групи: 1-ша – інтактні; 2-га – уражені хлоридом кадмію; 3-я – уражені хлоридом свинцю; 4-та – комбіноване ураження хлоридом кадмію та хлоридом свинцю. Декапітацію під легким ефірним наркозом проводили на 1-шу, 3-тю, та 5-ту доби від моменту інтоксикації. Для дослідження використовували

цільну кров, плазму крові та печінку. Стан антиоксидантної системи оцінювали за активністю глутатіонпероксидази (ГПО) та глутатіонредуктази (ГР), які визначали за методами, описаними у роботі [6], концентрацію відновленого глутатіону (Г-SH) за методом, запропонованим Ellman G.L. [13], та церулоплазмину (ЦП) [5]. Стан мікосомальної детоксикувальної системи – за активністю N-деметилування диметиланіліну (N-ДМА) та р-гідроксилування аніліну (р-ГА) [4] в мікосомах гепатоцитів, виділених методом низькошвидкісного центрифугування [10]. Визначали також показники ендogenous інтоксикації: еритроцитарний індекс інтоксикації (EII) за методом [11] та вміст молекул середньої маси у плазмі крові (МСМ), як описано у роботі [9]. З метою оцінки стану мембран гепатоцитів визначали активність аспартат- (АсАТ) та аланін-амінотрансферази (АлАТ) [7], а також кислій (КФ) та лужної (ЛФ) фосфатази [1] у плазмі крові піддослідних тварин.

Отримані результати обробляли статистично з використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Із наведених у таблиці 1 результатів видно, що інтоксикація хлоридом кадмію призводить до суттєвого порушення глутатіонової ланки антиоксидантної системи. Так, активність ГПО на 1-шу добу від моменту введення отрути становила 61,9 % від рівня інтактних тварин. Достовірно нижчою вона була і в інші терміни дослідження, складаючи на 3-тю добу 75,2 %, а на 5-ту 85,0 % від норми. Аналогічні зміни спостерігались і відносно ГР, причому до закінчення терміну дослідження активність ферменту поступово зменшувалась. Це, а також, імовірно, і безпосередня взаємодія кадмію з вільними сульфгідрильними групами, призвело до зниження концентрації ГSH: на першу добу вміст дипептиду становив 75,1 %, 3-тю та 5-ту 70,1 % та 73,0 % відповідно від рівня інтактних тварин. Достовірного зменшення, з максимумом на 3-ю добу до 77,4 %, зазнавав і вміст основного антиоксиданта плазми крові – церулоплазмину.

Ураження хлоридом свинцю супроводжувалось подібною тенденцією – пригніченням антиоксидантної системи, хоча зміни були менш вираженими, ніж за дії кадмію. Однак поєднане введення солей кадмію та свинцю призводило до більш значного зниження досліджуваних нами компонентів антиоксидантної системи, ніж за інтоксикації кожним зокрема. Так, активність ГПО на 1-шу добу становила 59,5 %, ГР – 70,8 %, вміст Г-SH – 67,3 % від норми. Це ж стосується і концентрації ЦП – 68,9 % від рівня інтактних тварин. До 5-ї доби досліджувані показники залишались досто-

вірно нижчими від норми. Отже, можна констатувати, що свинець та кадмій потенціюють один одного відносно їх пригнічувального впливу на антиоксидантну систему.

Зважаючи на універсальність дії важких металів, нами було досліджено їх вплив на активність окиснювальних монооксигеназ ендоплазматичного ретикулула. Отримані нами результати свідчать про достовірне зниження окиснення субстрату I типу диметиланіліну N-деметилагою в усі терміни дослідження. Окиснення субстрату II типу аніліну зазнавало менших змін, що вказує на різницю у лімітувальних стадіях мікосомної біотрансформації двох типів ксенобіотиків, що відрізняються молекулярними механізмами взаємодії з електронотранспортним ланцюгом, зокрема характером зв'язування з цитохромом P-450 під впливом досліджуваних нами токсикантів. Звертає на себе увагу той факт, що поєднаний вплив кадмію та свинцю у відсотковому відношенні мав більший пригнічувальний ефект на досліджувані нами ферменти мікосомального окиснення. За цих умов в організмі накопичуються токсичні продукти метаболічних перетворень, котрі не в змозі інтактивуватися. Про це свідчить зафіксоване нами зростання EII та МСМ. Так, EII за отруєння хлоридом кадмію максимально збільшувався на 5-ту добу дослідження, перевищуючи на 47,2 % рівень інтактних тварин. Аналогічний показник (зростання на 40,7 %) ми отримали і за отруєння хлоридом свинцю. Поєднане ж застосування обох токсикантів супроводжувалось зростанням EII на 91,2 %, що значно вище, ніж за роздільного введення досліджуваних нами важких металів. Подібна тенденція спостерігалась і стосовно МСМ, однак у відсотковому відношенні вона була менш виражена.

Враховуючи те, що EII відображає ступінь ушкодження мембран еритроцитів, які розглядають як прототип плазматичних мембран інших клітин, можна стверджувати, що кадмій та свинець пошкоджують клітинні мембрани. Для отримання повнішої інформації про стан та функції плазматичних мембран, ми вивчали також активність мембраноспецифічних ферментів – лужної фосфатази, яка локалізована у мембранах, та амінотрансфераз – цитозольних ферментів, підвищення активності яких у плазмі вказує на ушкодження мембран. Проведені нами дослідження підтвердили мембранотропну дію кадмію та свинцю. На це вказує достовірне зростання у плазмі крові активності ЛФ, АлАТ та АсАТ як при роздільному, так і при поєднаному введенні досліджуваних нами токсикантів. Максимальні зміни спостерігались за поєднаної дії кадмію та свин-

Таблиця 1 – Вплив солей кадмію та свинцю на показники захисних систем організму щурів ($M \pm m$)

Показник	Біологічна рідина	Інтактні, n=6	Уражені хлоридом кадмію, n=18			Уражені хлоридом свинцю, n=18			Уражені хлоридом кадмію та свинцю, n=18		
			1-ша доба	3-я доба	5-та доба	1-ша доба	3-я доба	5-а доба	1-ша доба	3-я доба	5-та доба
ГПО, ммоль·хв ⁻¹ ·кг ⁻¹	Гомогенат печінки	23,32±0,26	14,44±0,21*	17,55±0,22*	19,83±0,33*	14,87±0,17*	17,96±0,20*	20,13±0,24*	13,82±0,19*	15,84±0,23*	16,27±0,35*
ГР, ммоль·хв ⁻¹ ·кг ⁻¹	Гомогенат печінки	24,31±0,39	21,54±0,31*	18,52±0,32*	17,58±0,29*	22,36±0,27*	21,57±0,28*	21,18±0,25*	17,23±0,19*	16,46±0,21*	18,11±0,29*
Г-SH, ммоль·кг ⁻¹	Гомогенат печінки	3,15±0,03	2,39±0,04*	2,21±0,02*	2,30±0,03*	2,57±0,03*	2,41±0,03*	2,36±0,02*	2,12±0,02*	2,07±0,03*	2,16±0,02*
ЦП, мг·л ⁻¹	Плазма крові	229,2±7,5	196,1±6,2*	177,5±6,0*	192,4±7,1*	207,3±11,0	197,3±7,2*	203,6±8,3	157,9±7,3*	144,3±8,2*	132,5±6,9*
N-ДМА, ммоль·хв ⁻¹ ·кг ⁻¹	Мікросоми гепатоцитів	8,11±0,17	6,86±0,12*	6,74±0,18*	6,48±0,11*	6,93±0,17*	6,85±0,12*	6,68±0,10*	6,53±0,19*	6,35±0,14*	6,26±0,12*
p-ГА, ммоль·хв ⁻¹ ·кг ⁻¹	Мікросоми гепатоцитів	0,77±0,04	0,71±0,03	0,68±0,02	0,57±0,02*	0,72±0,03	0,70±0,02	0,62±0,02*	0,61±0,02*	0,59±0,02*	0,56±0,01*
ЕП, %	Кров	35,8±2,1	49,7±2,3*	53,4±2,6*	52,7±3,2*	44,5±3,1	48,3±2,7*	50,4±2,9*	64,5±3,4*	68,7±2,9*	62,3±2,6*
МСМ, ум.од.	Плазма крові	0,504±0,032	0,602±0,031*	0,634±0,037*	0,628±0,033*	0,579±0,027*	0,601±0,024	0,611±0,022*	0,697±0,032*	0,701±0,026*	0,711±0,036*
АлАТ, ммоль·год ⁻¹ ·л ⁻¹	Плазма крові	0,78±0,03	0,97±0,04	1,01±0,03*	1,04±0,04*	0,89±0,03	0,96±0,02*	1,01±0,03*	1,06±0,04*	1,25±0,04*	1,15±0,03*
АсАТ, ммоль·год ⁻¹ ·л ⁻¹	Плазма крові	0,53±0,04	0,60±0,03*	0,63±0,05*	0,64±0,05*	0,58±0,03	0,61±0,04	0,62±0,04*	0,62±0,04*	0,74±0,04*	0,67±0,03*
КФ, ммоль·год ⁻¹ ·л ⁻¹	Плазма крові	0,28±0,02	0,37±0,03*	0,41±0,03*	0,44±0,03*	0,34±0,02	0,39±0,03*	0,42±0,02*	0,64±0,03*	0,69±0,04*	0,62±0,03*
ЛФ, ммоль·год ⁻¹ ·л ⁻¹	Плазма крові	0,42±0,03	0,54±0,02*	0,58±0,03*	0,58±0,02*	0,49±0,02	0,52±0,03*	0,54±0,02*	0,69±0,03*	0,72±0,04*	0,64±0,03*

Примітка. * – різниця достовірна по відношенню до інтактних тварин ($P < 0,05$).

цю на 3-тю добу від моменту введення отруту. Варто відзначити, що активність АлАТ у відсотковому відношенні перевищувала аналогічний показник АсАТ (відповідно, 160,1 та 139,7 % від рівня інтактних тварин). Позаяк АлАТ є органоспецифічною для печінки, можна думати про переважно гепатотоксичну дію даних токсикантів. Свідченням цього є також достовірне зростання активності кислої фосфатази у плазмі крові отруєних тварин, причому максимальні зміни спостерігались і за поєднаного введення кадмію та свинцю. Оскільки цей фермент

локалізується в лізосомах, можна думати про значні порушення окиснювальних процесів у клітинах із закисненням їх внутрішнього середовища.

ВИСНОВКИ: 1. Кадмій та свинець мають однонаправлену дію відносно захисних систем організму – пригнічується активність антиоксидантної, детоксикуючої та мембраностабілізуючої систем.

2. При поєднаному введенні негативні ефекти кадмію та свинцю сумуються.

ЛІТЕРАТУРА

1. Горячковский А.М. Справочное пособие по клинической биохимии. – Одеса: Ока, 1994. – 415 с.
2. Губский Ю.И., Долго-Сабуров В.Б., Храпак В.В. Химические катастрофы и экология. – К.: Здоров'я, 1993. – 224 с.
3. Егоров Ю.Л., Кириллов В.Ф. Экологическая значимость и гигиеническая регламентация свинца и кадмия в различных средах (обзор) // Медицина труда и пром. экология. – 1996. – № 10. – С.18-25.
4. Карузина И.И., Арчаков А.И. Выделение микросомной фракции печени и характеристика ее окислительных систем // В кн.: Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 49-62.
5. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – 311 с.
6. Кругликова Г.О., Штутман Ц.М. Глутатион-

пероксидазна та глутатионредуктазна активність печінки щурів після введення селеніту натрію // Укр. біохім. журн. – 1976. – **48**, № 2. – С. 227-233.

7. Методические указания по применению унифицированных клинических лабораторных методов исследования / под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина. – 1973. – 245 с.

8. Михалева Л.М. Патологическая анатомия экспериментальной интоксикации, вызванной хлоридом кадмия: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.15. – М., 1990. – 31 с.

9. Оськина В.В., Чекалина К.И., Габриэлян Н.И. Среднемолекулярные пептиды спинномозговой жидкости при гнойных менингитах. // Лаб. дело. – 1987. – № 2. – С. 23-25.

10. Прохорова М.И. Методы биохимических

исследований. – Л.: Изд.-во ЛГУ, 1982. – 168 с.

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

12. Casalino E., Sblano C., Landriscina C. Enzyme activity alteration by cadmium administration to rats: the possibility of iron involvement in lipid peroxidation // Arch Biochem Biophys. – 1997. – **346**, № 2. – P. 171-179.

13. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – **82**, № 1. – P. 70-77.

14. Eybl V., Kotyzov P., Koutensky J. et al. Effect of cadmium chelating agents on organ cadmium and trace element levels in mice // Analyst. – 1998. – **123**, № 1. – P. 25-26.

15. Gill K., Sandrir R., Sharma G. et al. Perturbations in lipid peroxidation and antioxidant enzymes on cadmium exposure to growing rats // J. Trace Elem. Exp. Med. – 1990. – **3**, № 2. – P. 79-89.

16. Gupta S., Athar M., Behari J.R., Srivastava R.C. Cadmium-mediated induction of cellular defence mechanism: a novel example for the development of adaptive response against a toxicant // Ind Health. – 1991. – **29**, № 1. – P. 1-9.

17. Osman K., Schtz A., Akesson B. et al. Inter-

actions between essential and toxic elements in lead exposed children in Katowice, Poland // Clin. Biochem. – 1998. – **31**, № 8. – P. 657-665.

18. Ossola J.O., Tomaro M.L. Heme oxygenase induction by cadmium chloride: evidence for oxidative stress involvement // Toxicology. – 1995. – № 1-3. – P. 141-147.

19. Sarkar S., Yadav P., Bhatnagar D. Cadmium-induced lipid peroxidation and the antioxidant system in rat erythrocytes: the role of antioxidants // J Trace Elem Med Biol. – 1997. – **11**, № 1. – P. 8-13.

20. Sarkar S., Yadav P., Trivedi R. et al. Cadmium-induced lipid peroxidation and the status of the antioxidant system in rat tissues // J Trace Elem Med Biol. – 1995. – **9**, № 3. – P. 144-149.

21. Savolainen H. Cadmium-associated renal disease // Ren Fail. – 1995. – **17**, № 5. – P. 483-487.

22. Skoczynska A., Smolik R., Milian A. The effect of combined exposure to lead and cadmium on the concentration of zinc and copper in rat tissues // Int J Occup Med Environ Health. – 1994. – **7**, № 1. – P. 41-49.

23. Tandon S.K., Khandelwal S., Jain V.K., Mathur N. Influence of dietary iron deficiency on nickel, lead and cadmium intoxication // Sci Total Environ. – 1994. – **148**, № 2-3. – P. 167-173.

СОСТОЯНИЕ ЗАЩИТНЫХ СИСТЕМ ОРГАНИЗМА ПРИ СОВМЕСТНОМ ВВЕДЕНИИ СОЛЕЙ КАДМИЯ И СВИНЦА

Я.И. Гонский, Л.Л. Головко

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Исследовано влияние раздельного и совместного введения хлоридов кадмия и свинца на состояние антиоксидантной, детоксицирующей систем и плазматических мембран. Установлено однонаправленное отрицательное действие кадмия и свинца на показатели антиоксидантной системы, активность микросомальных монооксигеназ, что приводило к усугублению эндогенной интоксикации и нарушению проницаемости плазматических мембран. При совместном применении исследуемых токсикантов наблюдался эффект суммации.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **интоксикация, соли кадмия и свинца, защитные системы организма.**

THE STATE OF THE PROTECTIVE SYSTEMS OF ORGANISM ON CONDITIONS OF COMBINED INTRODUCTION OF CADMIUM SALTS AND LEAD

Ya.I. Honsky, L.L. Holovko

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The influence of separate and combined introduction of chlorides of cadmium and lead on the state of antioxidant, detox systems and plasmatic membranes is explored. A unilateral negative influence of cadmium and lead on indexes of antioxidant systems is set, and also the activity of microsomal monooxygenase, that resulted in growth of endogenous intoxication and violation of permeability of plasmatic membranes. In case of combined application of explored toxic matters the effect of summing existed.

KEY WORDS: **intoxication, salts of cadmium and lead, protective systems of organism.**

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

ВПЛИВ ІНГІБІТОРІВ НА АКТИВНІСТЬ МЕТАБОЛІЗУЮЧИХ ФЕРМЕНТІВ І ТОКСИЧНІСТЬ БРОМБЕНЗОЛУ ТА ТЕТРАХЛОРМЕТАНУ У ЩУРІВ

С.О. Качула, О.Х. Герич, О.О. Пентюк

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

У досліджах на 88 щурах-самцях показано, що 3-денне голодування, введення ацетону (1 г/кг), високожирова дієта (50 % калорій за рахунок жирів) та цукровий діабет (стрептозотозин – 70 мг/кг) стимулюють паранітрофенолгідроксилазну активність та CCl_4 -залежну пероксидацію ліпідів мікросом печінки. За здатністю пригнічувати ці активності діетилдитіокарбамат та диметилсульфоксид значно переважають орфенадрин, хлорамфенікол, триптамін, кетоконазол, тро-леандоміцин, хінідин. Введення діетилдитіокарбамату та диметилсульфоксиду ефективно попереджує токсичні ефекти бромбензолу та CCl_4 щодо гепатоцитів та негативний вплив бромбензолу на печінку, легені й нирки щурів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: орфенадрин, хлорамфенікол, триптамін, кетоконазол, тролеандоміцин, хінідин, діетилдитіокарбамат, диметилсульфоксид, пара-нітрофенолгідроксилазна активність, бромбензол, тетрахлорметан.

ВСТУП. Біотрансформація є ключовою ланкою в реалізації токсичності більшості ксенобіотиків. Особливу роль у метаболізмі ксенобіотиків відіграє цитохром P4502E1, який має підвищену здатність до генерування реакційно-здатних інтермедіатів і активних форм кисню в процесі метаболізму парацетамолу, фторотану, CCl_4 , бензолу, бромбензолу, нітрозамінів та інших ксенобіотиків [1, 10]. Активність цитохрому P4502E1 зростає при голодуванні, зловживанні алкоголем, цукровому діабеті, ожирінні, що нерідко проявляється токсичними реакціями під час фармакотерапії. До інгібіторів цитохрому P4502E1 належать діетилдитіокарбамат (ДЕДТК), дисульфірам, диметилсульфоксид (ДМСО), сірковмісні сполуки часнику – діалілдисульфід, діалілсульфід тощо [9, 10]. Деякі з них здатні захищати печінку від дії ксенобіотиків [13]. Однак у цілому протекторний потенціал інгібіторів цитохрому P4502E1 досліджено недостатньо.

Метою роботи було оцінити протекторну дію деяких інгібіторів цитохрому P450 при ураженнях печінки, легень та нирок бромбензолом та печінки CCl_4 .

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на 88 щурах-самцях, яких утримували на

© С.О. Качула, О.Х. Герич, О.О. Пентюк – д.мед.н., проф., 2004.

напівсинтетичному крохмально-казеїновому раціоні, збалансованому за всіма нутрієнтами. Частину тварин на 3 дні позбавляли харчування, залишаючи вільним доступ до води. Індукцію ферментів викликали шляхом перорального триразового введення щурам по 1 г/кг ацетону або переведення їх на 4-му тижні на високожирову дієту, або моделювання цукрового діабету. Надлишок жирів створювали, збільшуючи квоту жирів до 50 % загального калоражу за рахунок зменшення квоти вуглеводів до 26 %. Цукровий діабет спричиняли шляхом внутрішньоочеревинного введення 70 мг/кг стрептозотозину. Через 2 тижні в дослід брали тварин з рівнем глюкози, що перевищував 12 ммоль/л.

У мікросомах печінки визначали активність CCl_4 -залежної пероксидації ліпідів (CCl_4 -ПОЛ) та паранітрофенолгідроксилази [1, 2]. До мікросом печінки додавали специфічні інгібітори цитохрому P450: інгібітор P4502B – орфенадрин (0,2 мМ) [7], інгібітор P4501A2 та P4502A6 – триптамін (0,05 мМ) [11], інгібітор P4502B і 2C – хлорамфенікол (ХФ, 0,05 мМ) [8], інгібітор P4502D – хінідин (10 мкМ) [4], інгібітори P4503A – тролеандоміцин (Тро, 0,025-0,1 мМ) та кетоконазол (0,1 мМ) [6, 12], інгібітори P4502E1 – ДЕДТК (0,1 мМ) та ДМСО (0,1 %) [4, 5, 6]. Оскільки орфенадрин, триптамін, ХФ, Тро, ДЕДТК мають суїцидальний (mechanism-based) механізм дії, то перед

додаванням субстратів проводили 10-хвилинну передінкубацію мікросом з цими інгібіторами в присутності NADPH. Інші інгібітори додавали до інкубаційної суміші разом із субстратами.

Гепатоцити отримували колагеназним методом, а їх життєздатність оцінювали за поглинанням трипанового синього, виходом лактатдегідрогенази (ЛДГ) в позаклітинну рідину, зменшенням вмісту відновленого глутатіону (GSH) при інкубації гепатоцитів з 0,6 мМ бромбензолом або 0,6 мМ CCl_4 протягом 120 хв, як описано раніше [1]. Інгібування ферментів *in vivo* викликали шляхом введення в шлунок ХФ (100 мг/кг 1 раз на добу протягом 5 днів), кетоконазолу (150 мг/кг 1 раз на добу протягом 4 днів), ДЕДТК – (200 мг/кг 1 раз на добу протягом 2 днів). ДМСО вводили підшкірно в дозі 1 г/кг протягом 4 днів. Тварин у дослід брали через 2-3 год після останнього введення інгібіторів, коли вони створюють максимальний вплив на ферменти.

Гепато-, нефро- та пульмотоксичність бромбензолу оцінювали після його перорального введення в дозі 1 г/кг. У добовій сечі визначали вміст білка, креатиніну, активність гамма-глутамілтрансферази (ГГТФ), у сироват-

ці крові – вміст креатиніну, активність аланінамінотрансферази (АлАТ, КФ 2.6.1.2) [3]. Лаваж легень проводили 0,9 % розчином натрію хлориду, і в рідині змивів визначали вміст білка, активність ГГТФ та глутатіон-S-трансферази (ГТФ) методами, описаними раніше [1].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. На першому етапі ми оцінили вплив різних інгібіторів на паранітрофенолгідроксилазну активність та активність CCl_4 -ПОЛ (маркери P4502E1) в мікросомах печінки інтактних тварин та у щурів з високою активністю цитохрому P4502E1, стимульованою голодуванням, введенням ацетону, високожировою дієтою та цукровим діабетом.

Встановлено факт значного зростання паранітрофенолгідроксилазної активності (у 2,5-3,4 раза) та CCl_4 -ПОЛ (в 2,0-2,6 раза) у мікросомах печінки під впливом голодування, введення ацетону, високожирової дієти та цукрового діабету (табл. 1). Паранітрофенолгідроксилаза та CCl_4 -ПОЛ у мікросомах печінки інтактних щурів виявляли слабку чутливість до інгібіторів P4502B (орфенадрину, ХФ),

Таблиця 1 – Вплив інгібіторів на паранітрофенолгідроксилазу та CCl_4 -залежну пероксидацію ліпідів у мікросомній фракції печінки інтактних щурів і тварин з індукованою активністю цитохрому P4502E1 (n=7; M±m)

Інгібітори, концентрація	Групи тварин				
	Інтактні	Голодування	Ацетон	Високожирова дієта	Цукровий діабет
Паранітрофенолгідроксилаза, нмоль/хв/мг білка					
Без інгібіторів	0,28±0,02	0,83±0,08*	0,94±0,06*	0,74±0,05*	0,70±0,04*
Паранітрофенолгідроксилаза, в % до активності без інгібіторів					
Орфенадрин, 0,2 мМ	92,9±2,2	90,2±2,7	80,2±2,1*	86,6±2,5	90,1±2,7
Триптамін, 0,05 мМ	91,3±2,3	88,4±1,9	84,9±2,9	88,2±2,3	89,8±2,8
ХФ, 0,05 мМ	88,0±1,6	83,2±1,8	71,4±2,1*	82,7±3,1	83,6±2,7
Хінідин, 10 мкМ	90,5±3,3	88,0±1,9	87,6±1,6	88,8±2,6	89,3±2,5
ТРО, 0,1 мМ	86,4±2,3	76,1±1,6*	71,3±2,4*	74,8±2,6*	80,0±2,1
Кетоконазол, 0,1 мМ	84,9±2,2	76,4±3,2	72,6±2,8	78,9±2,6	79,9±2,2
ДЕДТК, 0,1 мМ	25,1±1,9	8,38±1,0*	13,6±1,3*	14,8±1,1*	11,1±0,8*
ДМСО, 0,1 %	30,3±2,2	11,8±1,1*	17,4±1,1*	16,5±1,2*	15,6±1,1*
CCl_4 -залежна пероксидація ліпідів, в % до активності без інгібіторів					
Без інгібіторів	4,05±0,18	9,99±0,70*	10,7±0,51*	9,10±0,53*	8,28±0,54*
CCl_4 -залежна пероксидація ліпідів, в % до активності без інгібіторів					
Орфенадрин, 0,2 мМ	81,2±2,8	76,1±2,2	72,7±2,4*	76,5±2,8	75,4±2,4
Триптамін, 0,05 мМ	90,1±1,9	85,4±2,8	84,6±3,0	82,2±3,0	82,3±3,2
ХФ, 0,05 мМ	80,8±3,0	73,6±2,7	70,3±2,3*	76,5±3,1	73,0±3,3
Хінідин, 10 мкМ	88,0±2,4	83,7±2,4	82,9±2,3	80,3±3,3	81,2±3,2
ТРО, 0,1 мМ	80,4±2,3	73,7±2,4	70,0±2,3*	72,7±2,8	72,6±2,6
Кетоконазол, 0,1 мМ	81,4±2,9	74,9±2,8	73,8±2,6	76,3±2,6	75,9±2,6
ДЕДТК, 0,1 мМ	24,9±1,9	13,0±1,4*	16,4±2,0*	12,5±1,4*	12,1±1,3*
ДМСО, 0,1%	30,7±2,4	17,7±1,7*	20,3±2,2*	15,8±1,2*	15,4±1,4*

Примітка: 1. Активність ферментів у пробах без інгібіторів взято за 100 %.
2. Достовірність відмінностей порівнювали з інтактними щурами.

P4501A2 і P4502A (триптаміну), P4502C (ХФ), P4502D (хінідину), P4503A (Тро, кетоконазолу), які пригнічували лише 7,1-19,6 % цих активностей. В умовах голодування, високожирової дієти, цукрового діабету не спостерігалось достовірного посилення інгібуючої дії цих інгібіторів і лише введення ацетону дещо посилювало дію орфенадрину та Тро (гальмування в межах 19,8-30,0 %). Разом із тим, паранітрофенілгідроксилазна активність та активність CCl_4 -ПОЛ виявились високочутливими до інгібіторів P4502E1 – ДЕДТК та ДМСО. В інтактних тварин ці активності гальмувались у межах 69-75 %. Ще більшим був ефект цих інгібіторів в умовах голодування (до 82-92 %), введення ацетону (на 80-86 %), високожирової дієти (на 84-88 %), цукрового діабету (на 84-89%).

Ми дослідили токсичну дію субстратів цитохрому P4502E1 – бромбензолу та CCl_4 – на ізольовані гепатоцити, одержані від контрольних щурів або тварин, які отримували інгібітори. Контролем були проби, в яких гепатоцити інкубували без бромбензолу чи CCl_4 (інтактні клітини). Інгібітори по-різному впливали на резистентність гепатоцитів до бромбензолу та CCl_4 (табл. 2). Кетоконазол практично не змінював токсичність обох ксенобіотиків, а хлорамфенікол невеликою мірою, але достовірно, зменшував кількість клітин, пофарбованих трипановим синім, сповільнював вихід ЛДГ з гепатоцитів в інкубаційне середовище, на 26-30 % підвищував рівень GSH. Більшою протекторною активністю володів ДМСО, введення якого забезпечувало суттєве підвищення стійкості гепатоцитів до дії

токсикантів. Найбільшу захисну дію проявив ДЕДТК, під впливом якого кількість гепатоцитів, що поглинули трипановий синій при інкубації з бромбензолом та CCl_4 , зменшилась на 34 та 48 %, вихід ЛДГ – на 34 та 37 %, а рівень GSH був вищим на 73 та 56 % відповідно порівняно з тваринами, яким не вводили інгібітори.

У дослідях *in vivo* нами була оцінена здатність ДЕДТК захищати печінку, легені та нирки щурів від токсичної дії бромбензолу. Введення тваринам бромбензолу викликало пошкодження печінки, що проявлялось зростанням активності сироваткової АлАТ до $(1,95 \pm 0,15)$ мкмоль/л/год (при $0,49 \pm 0,06$ в контролі) та зниженням рівня глутатіону в печінці до $(2,20 \pm 0,20)$ мкмоль/г (при $6,65 \pm 0,40$ в контролі), пошкодження легень, що проявлялось підвищенням активності в рідині бронхоальвеолярного лаважу ГТФ до $(0,94 \pm 0,04)$ нмоль/хв/мл (при $0,32 \pm 0,05$ в контролі) та ГГТФ до $(0,75 \pm 0,06)$ нмоль/хв/мл (при $0,25 \pm 0,04$ в контролі), порушення функції нирок, які маніфестувались збільшенням активності ГГТФ у сечі до $(3,44 \pm 0,25)$ нмоль/хв/мл (при $1,09 \pm 0,14$ в контролі) та рівня креатиніну в сироватці крові до $(107,80 \pm 2,84)$ мкмоль/л (при $72,0 \pm 4,57$ в контролі). Попереднє введення ДЕДТК зменшувало токсичний вплив бромбензолу, і активність АлАТ складала $(0,82 \pm 0,06)$ мкмоль/л/год, ГТФ та ГГТФ у рідині лаважу – $(0,52 \pm 0,03)$ і $(0,42 \pm 0,04)$ нмоль/хв/мл відповідно, ГГТФ у сечі – $(1,74 \pm 0,15)$ нмоль/хв/мл, рівень глутатіону в печінці – $4,56 \pm 0,28$ мкмоль/г, а вміст креатиніну в сироватці крові – $(89,90 \pm 3,56)$ мкмоль/л.

Таблиця 2 – Вплив інгібіторів метаболізуючих ферментів та препарату "INOD'AIL" на токсичність бромбензолу та CCl_4 щодо ізольованих гепатоцитів (n=5, M±m)

Інгібітори	Контроль	ХФ	Кетоконазол	ДЕДТК	ДМСО
Кількість клітин, пофарбованих трипановим синім, %					
До інкубації	9,7±0,9	11,6±1,3	11,2±1,3	11,4±1,1	9,6±1,5
Через 120 хв від початку інкубації					
Інтактні клітини	18,8±1,4	22,2±1,5	21,4±2,4	20,8±1,3	18,6±1,7
Бромбензол	36,7±2,0	30,6±1,9*	34,8±3,2	24,4±1,7*	25,4±2,1*
CCl_4	45,6±3,0	36,6±2,2*	43,8±2,2	23,8±2,2*	30,2±2,4*
Вихід лактатдегідрогенази в інкубаційне середовище, %					
До інкубації	100	100	100	100	100
Через 120 хв від початку інкубації					
Інтактні клітини	140±3,9	147±6,2	152±4,2	147±7,1	141±6,0
Бромбензол	218±11	180±4,9*	200±14	143±6,9*	149±6,0*
CCl_4	235±10	187±12*	220±9,2	158±6,8*	176±7,1*
Відновлений глутатіон, нмоль на 1 млн клітин					
До інкубації	40,1±2,0	39,0±1,9	40,0±1,9	48,6±2,4	45,4±2,1
Через 120 хв від початку інкубації					
Інтактні клітини	33,7±1,8	33,4±1,7	29,4±2,4	37,0±2,1	35,0±2,6
Бромбензол	16,6±1,5	21,6±1,3*	18,6±1,7	28,8±1,5*	25,6±1,3*

Примітка: * – достовірні відмінності порівняно з контролем.

Отримані нами дані показали, що ДЕДТК та ДМСО досить ефективно попереджують токсичні ефекти CCl_4 і бромбензолу на печінку, а ДЕДТК, крім того, ще й виявився здатним запобігати і пульмо- та нефротоксичним ефектам бромбензолу. За протекторною дією ДЕДТК та ДМСО значно переважають інші інгібітори – кетоконазол та ХФ, що свідчить про тісний зв'язок процесів метаболічної активації CCl_4 та бромбензолу саме з цитохромом P450E1. Ці дослідження відкривають перспективи використання інгібіторів для попередження токсичних реакцій на фармакотерапію ліками, субстратами цитохрому P450E1, у пацієнтів з індукованою активністю цього цитохрому. Для такої мети можна було

б використати природні інгібітори P450E1, наприклад компоненти часнику.

ВИСНОВКИ. ДЕДТК та ДМСО при додаванні до мікросом печінки значно гальмують конститутивну і індуковану голодуванням, ацетоном, жирною дієтою та цукровим діабетом активність цитохрому P450E1. За здатністю пригнічувати паранітрофенілгідроксилазу та CCl_4 -ПОЛ ці інгібітори значно переважають орфенадрин, ХФ, триптамін, кетоконазол, Тро, хінідин. Введення тваринам ДЕДТК та ДМСО ефективно попереджує токсичні ефекти бромбензолу та CCl_4 щодо гепатоцитів та негативний вплив бромбензолу на печінку, легені та нирки щурів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Качула С.А., Пентюк А.А., Тертышная Е.В. и др. Изучение взаимосвязи гепатотоксического действия бромбензола и маркерных активностей цитохрома P450 и ферментов конъюгации // *Соврем. Пробл. токсикол.* – 2002. – № 2. – С. 40-44.
2. Костюк В.А. Роль ковалентного связывания и перекисного окисления липидов в повреждении печени четыреххлористым углеродом // *Биохимия.* – 1991. – **56**, № 10. – С. 1878-1885.
3. Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. В.В.Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
4. Bourrie M., Meunier V., Berger Y. et al. Cytochrome P450 isoform inhibitors as a tool for the investigation of metabolic reactions catalyzed by human liver microsomes // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1996. – **277**, № 1. – P. 321-332.
5. Busby W.F. Jr., Ackermann J.M., Crespi C.L. Effect of methanol, ethanol, dimethyl sulfoxide, and acetonitrile on in vitro activities of cDNA-expressed human cytochromes P-450 // *Drug Metab. Dispos.* – 1999. – **27**, № 2. – P. 246-249.
6. Chang T.K., Gonzalez F.J., Waxman D.J. Evaluation of triacetyloleandomycin, alpha-naphthoflavone and diethyldithiocarbamate as selective chemical probes for inhibition of human cytochromes P450 // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1994. – **311**, № 2. – P. 437-442.
7. Guo Z., Raeissi S., White R.B. et al. Orphenadrine and methimazole inhibit multiple cytochrome P450 enzymes in human liver microsomes // *Drug Metab. Dispos.* – 1997. – **25**, № 3. – P. 390-393.
8. He Y.Q., He Y.A., Halpert J.R. Escherichia coli expression of site-directed mutants of cytochrome P450 2B1 from six substrate recognition sites: substrate specificity and inhibitor selectivity studies // *Chem. Res. in Toxic.* – 1995. – **8**, № 4. – P. 574-579.
9. Lewis D.F., Bird M.G., Dickins M. et al. Molecular modelling of human CYP2E1 by homology with the CYP102 haemoprotein domain: investigation of the interactions of substrates and inhibitors within the putative active site of the human CYP2E1 isoform // *Xenobiotica.* – 2000. – **30**, № 1. – P.1-25.
10. Lieber C.S. Cytochrome P-450E1: Its Physiological and Pathological Role // *Physiol. Rev.* – 1997. – **77**, № 2. – P. 517-544.
11. Zhang W., Kilicarslan T., Tyndale R.F. et al. Evaluation of methoxalen, tranlylcypromine, and tryptamine as specific and selective CYP2A6 inhibitors in vitro // *Drug Metab. Dispos.* – 2001. – **29**, № 6. – P. 897-902.
12. Zhang W., Ramamoorthy Y., Kilicarslan T. et al. Inhibition of cytochromes P450 by antifungal imidazole derivatives // *Drug Metab. Dispos.* – 2002. – **30**, № 3. – P. 314-318.
13. Yang C.S., Chhabra S.K., Hong J.Y. et al. Mechanisms of inhibition of chemical toxicity and carcinogenesis by diallyl sulfide (DAS) and related compounds from garlic // *J. Nutr.* – 2001. – **131**, № 3s. – P. 1041S-1045S.

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ НА АКТИВНОСТЬ МЕТАБОЛИЗИРУЮЩИХ ФЕРМЕНТОВ И ТОКСИЧНОСТЬ БРОМБЕНЗОЛА И ТЕТРАХЛОРМЕТАНА У КРЫС

С.А. Качула, Е.Ф. Герич, А.А. Пентюк
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. Н.И. ПИРОГОВА, ВИННИЦА

Резюме

В опытах на 88 крысах-самцах показано, что 3-дневное голодание, введение ацетона (1 г/кг), высокожировая диета (50 % калорий за счет жиров) и сахарный диабет (стрептозотцин – 70 мг/кг) стимулируют паранитрофенолгидроксилазную активность и CCl_4 -зависимую пероксидацию липидов микросом печени. За способностью угнетать эти активности диэтилдитиокарбамат и диметилсульфоксид значительно превышают орфенадрин, хлорамфеникол, триптамин, кетоконазол, тролеандомицин, хинидин. Введение диэтилдитиокарбамата и диметилсульфоксида эффективно предупреждает токсические эффекты бромбензола и CCl_4 относительно гепатоцитов и негативное влияние бромбензола на печень, легкие и почки крыс.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: орфенадрин, хлорамфеникол, триптамин, кетоконазол, тролеандомицин, хинидин, диэтилдитиокарбамат, диметилсульфоксид, паранитрофенолгидроксилазная активность, бромбензол, тетрахлорметан.

INFLUENCE OF INHIBITORS ON ACTIVITY OF METABOLIZING ENZYMES AND TOXICITY OF BROMBENZENE AND TETRACHLORMETHANE AT RATS

S.O. Kachula, O.H. Gerych, O.O. Pentiuk
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY M.I. PYROHOV, VINNYTSIA

Summary

In experiments on 88 male rats is shown that a 3-days starvation, introduction of an acetone (1 g/kg), high-fat diet (50 % of calories at the expense of lipids) and diabetes mellitus (streptozocin – 70 mg/kg) stimulate the paranitrophenolhydroxylase activity and CCl_4 -dependent lipid peroxidation of liver microsomes. Diethyldithiocarbamate and dimethyl sulfoxide considerably exceed orphenadrine, chloramphenicol, tryptamine, ketaconazole, troleandomycine, chinidinum by their ability to oppress these kinds of activity. The introduction of diethyldithiocarbamate and dimethyl sulfoxide effectively prevents the toxic effects of brombenzene and CCl_4 concerning hepatocytes and the negative influence of brombenzene on liver, lungs and kidneys of rats.

KEY WORDS: orphenadrine, chloramphenicol, tryptamine, ketaconazole, troleandomycine, chinidinum, diethyldithiocarbamate, dimethyl sulfoxide, para-nitrophenolehydroxylase activity, brombenzene, tetrachlormethane.

Отримано 10.09.2003 р.

Адреса для листування: С.О. Качула, кафедра загальної та біологічної хімії Національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, вул Пирогова, 56, Вінниця, 21018, Україна.

ВПЛИВ АМАРАНТОВОЇ ОЛІЇ НА АКТИВНІСТЬ ТКАНИННОГО ТРОМБОПЛАСТИНУ СЕРЦЯ ЗА УМОВ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ

О.Б. Кучменко

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ "КИЄВО-МОГИЛЯНСЬКА АКАДЕМІЯ", КИЇВ

Стаття присвячена вивченню впливу амарантової олії на активність тканинного тромбопластину серцевого м'яза за умов іммобілізаційного стресу. Показано гіперкоагуляційний ефект іммобілізаційного стресу. Встановлено, що при введенні амарантової олії в дозі 0,25 мл/кг з лікувально-профілактичною метою щурам до іммобілізаційного стресу спостерігається блокування активації тканинного тромбопластину серця, що за умов клініки може усувати негативний вплив стресу на активацію тканинного тромбопластину і пов'язаного з ним тромбогенного стану, який може ускладнюватися тромбозами, порушеннями мікроциркуляції, інфарктами тощо.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: амарантова олія, тканинний тромбопластин серця, іммобілізаційний стрес.

ВСТУП. Біологічну дію амарантової олії на сьогодні вивчено недостатньо. Амарантова олія має високий вміст каротину, аскорбінової кислоти, фолатів, токоферолу, що робить її ефективним антиоксидантом [21, 22, 24, 26]. Цим пояснюються її ранозагоювальна та протипухлинна дії, а також можливість використання як радіопротектора [26]. Основними жирними кислотами, що містяться в амарантовій олії, є пальмітинова (19,1-23,4 %), олеїнова (18,7-38,9 %) та ліноленова (36,7-55,9 %) [23]. Показано, що застосування амарантової олії за умов впливу малих доз іонізуючого випромінювання та інтоксикації фторидами призводить до підвищення активності ферментної та неферментної ланок антиоксидантної системи захисту, в результаті чого нормалізуються процеси ліпідної пероксидації і печінці та серці [25]. Амарантова олія стабілізує еритроцитарні мембрани. Амарант відзначається високим вмістом білка, лізину, магнію, кальцію та сквалену [20, 23]. Доведено, що при застосуванні амарантової олії знижується рівень загального холестерину та холестерину ЛПДНГ, зростає вміст холестерину ЛПВГ [20]. Показано, що амарантова олія за всіма параметрами перевершує обліпихову [17].

Відомо, що тканинний тромбопластин серця може бути причиною тромбозів [1, 11].

© О.Б. Кучменко – к.біол.н., 2004.

Найбільш активний тканинний тромбопластин міститься у серці, легенях, мозку та нирках [6, 7]. Фармакологічні впливи на тканинний тромбопластин вивчено недостатньо. З цього питання у науковій літературі є лише поодинокі роботи [6-8, 16].

Метою дослідження було вивчення впливу амарантової олії на активність тканинного тромбопластину серцевого м'яза за умов іммобілізаційного стресу. Відомо, що стресові реакції негативно впливають на функції серця безпосередньо або непрямим шляхом, через порушення процесів згортання крові, зміни функціональних властивостей формених елементів крові, співвідношення біологічно активних речовин [9, 13, 15, 19].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Амарантову олію одержували відомим методом – екстракцією хладоном у спеціальній установці [2-5, 10, 12].

Досліди проведено на білих щурах лінії Вістар масою 175-225 г, яких утримували на змішаному раціоні віварію. До 1-ї піддослідної групи було включено інтактних шурів, у тварин 2-ї групи моделювали іммобілізаційний стрес, тваринам 3-ї групи щоденно протягом 2-х місяців вводили всередину через м'який тefлоновий зонд амарантову олію у кількості 0,25 мл/кг (0,05 мл/200 г) маси тіла щура за допомогою інсулінового шприца (в перера-

хунку на людину з середньою масою 70 кг – 17,5 мл), після чого викликали іммобілізаційний стрес [18]. Отже, олію амаранту застосовували з лікувально-профілактичною метою. Під рауш ефірним наркозом тканини промивали холодним 0,85 % розчином натрію хлориду через канюлю, введену у черевну аорту, під тиском, який створювали за допомогою апарата Боброва. У ході раніше проведених дослідів було показано, що наркоз не викликав статистично достовірних змін активності тромбопластину серця. З відмитого від крові серцевого м'яза брали наважки для приготування 10 % екстрактів (200 мг тканини та 1,8 мл 0,85 % розчину натрію хлориду). Гомогенат центрифугували протягом 10 хв зі швидкістю 1500 об./хв. Зі супернатанту готували розведення: 1:100 (0,5 мл рідини над осадом та 4,5 мл 0,85 % розчину натрію хлориду), 1:200, 1:500, 1:1000, 1:2000. Вони відповідали 1,0; 0,5; 0,2; 0,1 та 0,05 % тканинним екстрактам. Як субстрат застосовували безтромбоцитарну оксалатну плазму кролів, одержану таким способом: кров змішували у співвідношенні 1:10 з 1,34 % розчином оксалату натрію, центрифугували протягом 30 хв зі швидкістю 3000 об./хв. Якщо додати до субстратної плазми 0,277 % розчин кальцію хлориду, термін згортання не повинен бути меншим 120 с. За необхідності плазму центрифугували і довше, якщо час згортання був меншим 120 с. До 0,1 мл тканинного екстракту додавали 0,1 мл 0,277 % розчину кальцію хлориду і після нагрівання на водяній бані при температурі 37 °С протягом 10 с приливали мікропіпеткою 0,1 мл безтромбоцитарної оксалатної плазми [14]. Одержані дані опрацьовано методом варіаційної статистики із застосуванням спеціального пакета програм.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як видно з таблиці 1, при розведенні тканинного екстракту інтактних щурів у 100 разів час згортання субстратної плазми дорівнював 31 с, при розведенні у 200 разів – 39 с, у 500 разів – 47 с, у 1000 разів – 57 с, у 2000 разів – 68 с. При іммобілізаційному стресі час згортання безтромбоцитарної плазми значно скорочувався: у розведенні в 100 разів – на 54,8 %; у розведенні у 200 разів – на 48,7 %; у 500 разів – 48,9 %; у 1000 разів – 47,4 %; у 2000 разів – 45,6 % (табл. 1). Отже, іммобілізаційний стрес має гіперкоагуляційний ефект. Одержані результати не суперечать даним наукової літератури щодо ефектів іммобілізаційного стресу [14]. Лікувально-профілактичне застосування амарантової олії призводило до зниження гіперкоагуляційної активності серцевого тромбопластину (табл. 1). Іммобілізаційний стрес після введення амарантової олії не викликав значного скорочення згортання субстратної плазми. Це скорочення коливалося усього від 1,8 до 6,5 % у розведеннях тканинних екстрактів від 1:100 до 1:1000. А при розведенні 1:2000 час згортання субстратної плазми був подовжений на 2,9 % порівняно з вихідними даними. Ці незначні коливання часу згортання субстратної плазми у 3-ій групі щурів були незначними і статистично недостовірними. При всіх розведеннях подовження часу згортання субстратної плазми в середньому коливалося від 86,7 до 107,1 %. Таким чином, під впливом тривалого застосування амарантової олії практично блокувалася активація тромбопластину серця за умов іммобілізаційного стресу за показниками часу скорочення згортання субстратної плазми у різних розведеннях – від 1:100 до 1:2000. Таке виражене блокування гіперкоагуляційного

Таблиця 1 – Зміни активності тромбопластину тканини серця під впливом лікувально-профілактичного введення амарантової олії та іммобілізаційного стресу ($M \pm m$; $n=16$)

Розведення тканинних екстрактів	Час згортання субстратної плазми в різних групах і відсотки змін цього часу					
	1-ша група (контроль, інтактні щури)	2-га група (іммобілізаційний стрес)		3-тя група (лікувально-профілактичне введення амарантової олії протягом 2-х місяців у дозі 0,25 мл/кг маси тіла щурів+ іммобілізаційний стрес)		
	с	с	% зміни середньої величини віднос- но середньої вели- чини в 1-й групі	с	% зміни середньої величини віднос- но середньої вели- чини в 1-й групі	% зміни середньої величини віднос- но середньої вели- чини в 2-й групі
1:100	31,0±4,0	14,0*±2,3	- 54,8	29,0**±3,0	- 6,5	+ 107,1
1:200	39,0±4,2	20,0*±2,4	- 48,7	38,0**±4,1	- 2,6	+ 90,0
1:500	47,0±5,1	24,0*±3,1	- 48,9	46,0**±5,0	- 2,1	+ 91,7
1:1000	57,0±6,4	30,0*±4,0	- 47,4	56,0**±6,2	- 1,8	+ 86,7
1:2000	68,0±7,0	37,0*±4,7	- 45,6	70,0**±9,2	+ 2,9	+ 89,2

Примітка. * – різниця показника, порівняно з такою у нормі, статистично достовірна ($p < 0,05$); ** – різниця показника, порівняно з такою у щурів 2-ї групи (іммобілізаційний стрес), статистично достовірна ($p < 0,05$).

фактора – тканинного тромбoplastину серця – в умовах клініки може усувати негативний вплив стресу на активацію тканинного тромбoplastину і пов'язаного з ним тромбогенного стану, який може ускладнюватись тромбозами, порушеннями мікроциркуляції та інфарктами.

Одержані в ході експерименту дані свідчать про доцільність застосування в амбулаторних умовах амарантової олії для профілактики тромбоутворення у пацієнтів з серцево-судинними захворюваннями і станом гіперкоагуляції. На жаль, у клініці немає можливості визначати

активність тканинного тромбoplastину і її зміни при захворюваннях, а також дії лікарських засобів і біологічно активних речовин. У такій ситуації можна прогнозувати дію різних речовин, зокрема амарантової олії, на підставі даних, отриманих за експериментальних умов. Одержані дані свідчать про необхідність подальшого вивчення дії амарантової олії на тканинний тромбoplastин та показники коагулограми для обґрунтування застосування цієї олії як природного препарату у клінічній практиці в комбінованій терапії з іншими лікарськими засобами.

ЛІТЕРАТУРА

1. Амосова Е.Н. Клиническая кардиология: В 2-х т. – К.: Здоров'я; Книга-плюс, 1998. – 1. – 712 с.
2. Ветров П.П. Исследование процесса экстрагирования биологически активных веществ из лекарственного растительного сырья сжиженными газами: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. – Харьков, 1983. – С. 53-56.
3. Ветров П.П., Іванаускас В., Прокопенко О.П. та ін. Дослідження можливості одержання обліпихової олії з використанням зрідженого газу // Фармац. журн. – 1981. – № 4. – С. 65-67.
4. Ветров П.П., Носовская Т.Д., Гарная С.В. О комплексной переработке фитосырья // Досягнення сучасної фармації та перспективи її розвитку у новому тисячолітті: Матеріали V національного з'їзду фармацевтів України. – Харків: Вид-во Української фармацевтичної академії, 1999. – С. 286-287.
5. Ветров П.П., Носовская Т.Д., Гарная С.В. и др. Новые технологии в производстве фитопрепаратов // Новые технологии получения и применения биологически активных веществ: Тезисы докладов. – Симферополь: Изд-во КНЦ, 2002. – С. 6870.
6. Липкан Г.Н. Изменения тромбoplastиновой активности тканей при сочетанном применении растительных полифенольных препаратов и аскорбиновой кислоты с кокарбоксилазой // Физиологически активные вещества. – 1981. – Вып. 13. – С. 77-81.
7. Липкан Г.Н., Мадоян М.В., Осадцив И.В. и др. Влияние альвезина "нового" на тромбoplastиновую активность тканей // Гематология и переливание крови. – 1990. – Вып. 25. – С. 41-44.
8. Липкан Г.Н., Стрижак Ю.В., Твердохлеб М.О. и др. Проблема изучения тромбoplastиновой активности тканей в оценке гиперкоагуляционных состояний в эксперименте и клинике // Матеріали Міжнародного симпозиуму "Гемостаз – проблеми та перспективи". – К., 2002. – С. 64-67.
9. Новосельцева Т.В., Витриченко Е.Е., Лобань Г.А. и др. Влияние эмоционально-болевого стресса на функциональные свойства эритроцитов

в крови крыс // Нервные и гуморальные механизмы изменения компенсации в условиях действия патогенных факторов. – Запорожье, 1985. – 103 с.

10. Оболенцева Г.В., Брюзгинова Л.П., Ветров П.П. и др. Лекарственное и лечебно-профилактическое средство из плодов аронии черноплодной // Фармакологические аспекты изучения новых субстанций. Секция 4. – С. 220-221.
11. Передерий В.Г., Ткач С.М. Клинические лекции по внутренним болезням. В 2-х т. – К.: Нац. мед. ун-т им. А.А. Богомольца, 1998. – Т.1: Кардиология, ревматология, пульмонология. – 511 с.
12. Пименова Н.С., Иванова Р.А., Ялыничева Г.В. и др. Изучение стабильности облепихового масла, полученного экстракцией фреоном-12 и гексаном // Хим. фарм. журн. – 1984. – 18, № 3. – С. 338-343.
13. Пшеничникова М.Г., Кузнецова Б.А., Наумкович М.В. и др. Соотношение содержания катехоламинов и простагландинов в крови крыс при остром стрессовом воздействии и адаптации к стрессу // Бюл. exper. биол. и медицины. – 1990. – 109, № 6. – С. 534-535.
14. Семенів Д.В. Зміни активності тканинного тромбoplastину серця в умовах іммобілізаційного стресу та дії гідрофільної субстанції аронії // Укр. кардіолог. журн. – 1998. – № 9. – С. 68-70.
15. Сидоренко Б.А., Ревенко В.Н. Влияние психоэмоциональной пробы на свертывающую систему крови и тромбоцитарное звено гемостаза у больных стенокардией // Кардиология. – 1992. – № 1. – С. 41-42.
16. Тихая Н.Б., Липкан Г.Н. Изменения активности тканевого тромбoplastина под влиянием курсового применения масла черной смородины (МЧС) в эксперименте // 36. наукових праць співробітників КМАПО ім. П.Л. Шупика. – К., 2002. – Вип. 11, Кн. 3. – С. 760-767.
17. Устименко П.И. Чудо-растение – Амарант. – Житомир: ТПЦ "Олеся", 1991. – 32 с.
18. Хіжзасі А.А. Порівняльна оцінка антивираз-

кової дії чорнобривцевої та обліпихової рослинних олій // Ліки. – 1997. – № 4. – С. 110-112.

19. Шумаков В.А., Малиновская И.Э., Ташук В.К. и др. Функциональная активность тромбоцитов у больных нестабильной стенокардией в процессе выполнения стресс-тестов // Укр. кардиол. журн. – 1994. – № 1. – С.40-45.

20. Berger A., Gremaud G., Baumgartner M. et al. Cholesterol-lowering properties of amaranth grain oil in hamsters // Int. J. Vit. Nutr. Res. – 2003. – 73, № 1. – P. 39-47.

21. Bhatia A.L., Jain M. Amaranthus paniculatus (Linn.) improves learning after radiation stress // J. Ethnopharmacol. – 2003. – 85, № 1. – P. 73-79.

22. Desalen' T.L., Tsepaeva O.V., Sosnina N.A. et al. Isolation of pectin from Amaranthus cruentus and

study of its effect on function of isolated rat heart // Bull. Exp. Biol. Med. – 1997. – 123, № 1. – P. 91-94.

23. He H.P., Cai Y., Sun M. et al. Extraction and purification of squalene from amaranthus grain // J. Agric. Food. Chem. – 2002. – 50, № 2. – P. 368-372.

24. Klimczak I., Malecka M., Pacholek B. Antioxidant activity of ethanolic extracts of amaranth seeds // Nahrung. – 2002. – 46, № 3. – P. 184-186.

25. Konyk U.V., Hzhohots'kyi M.P., Koval'chuk S.M. Methabolic effect of amaranth oil and impulse hypoxic training under chronic fluoride intoxication and small doses of ionizing radiation // Fiziol. Zh. – 2002. – 48, № 6. – P. 80-85.

26. Verma R.K., Sisodia R., Bhatia A.L. Radioprotective role of Amaranthus gangeticus Linn.: a biochemical study on mouse brain // J. Med. Food. – 2002. – 5, № 4. – P. 189-195.

ВЛИЯНИЕ АМАРАНТОВОГО МАСЛА НА АКТИВНОСТЬ ТКАНЕВОГО ТРОМБОПЛАСТИНА СЕРДЦА В УСЛОВИЯХ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА

Е.Б. Кучменко

НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ "КИЕВО-МОГИЛЯНСКАЯ АКАДЕМИЯ", КИЕВ

Резюме

Статья посвящена изучению влияния амарантового масла на активность тканевого тромбопластина сердечной мышцы в условиях иммобилизационного стресса. Показано гиперкоагуляционный эффект иммобилизационного стресса. Установлено, что при введении амарантового масла в дозе 0,25 мл/кг с лечебно-профилактической целью крысам до иммобилизационного стресса наблюдается блокирование активации тканевого тромбопластина сердца, что в условиях клиники может устранять негативное влияние стресса на активацию тканевого тромбопластина и связанного с ним тромбогенного состояния, которое может осложняться тромбозами, нарушениями микроциркуляции, инфарктами и т. п.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: амарантовое масло, тканевой тромбопластин сердца, иммобилизационный стресс.

THE INFLUENCE OF AMARANTHUS OIL ON ACTIVITY OF HEART TISSUE THROMBOPLASTIN UNDER IMMOBILIZING STRESS

O.B. Kuchmenko

NATIONAL UNIVERSITY "KYIV-MOHYLA ACADEMY", KYIV

Summary

The article is devoted to study of amaranthus oil influence on the activity of heart tissue thromboplastin under the immobilizing stress. It was revealed hypercoagulation effect of immobilizing stress. The block of activation of heart tissue thromboplastin in rats was determined under supplementation of amaranthus oil at the concentration of 0,25 ml/kg with therapeutic and prophylactic purpose before the immobilizing stress. This may essentially decrease the negative influence of stress on the activation of tissue thromboplastin and development of thrombogenic state, thrombosis, disturbances of microcirculation, infarctions in clinic.

KEY WORDS: amaranthus oil, tissue thromboplastin, immobilizing stress.

Отримано 01.12.2003 р.

Адреса для листування: О.Б. Кучменко, а/с. 148, Київ-100, 02100, Україна.

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ НА ДІЮ БАРБІТУРАТИВ S-ПОХІДНИХ 1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОНУ ТА ПОХІДНИХ ТІАЗОЛО (3,2-В)-1,2,4-ТРИАЗОЛУ

О.І. Панасенко

ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Вивчено нейролептичну й аналептичну активність S-похідних 1,2,4-триазол-3-тіону та похідних тіазоло(3,2-в)-1,2,4-триазолу, виявлено деякі закономірності взаємозв'язку між хімічною будовою і нейролептичною та аналептичною активністю синтезованих сполук.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: 1,2,4-триазоли, бензиліденгідразида, нейролептична, аналептична активність.

ВСТУП. Останнім часом серед похідних 1,2,4-триазолу [1, 3] і його конденсованих систем знайдено речовини, які виявляють високу [4, 5] протимікробну, антиоксидну, протиішемічну, кардіопротекторну та спазмолітичну активність.

Тому ми вважали за доцільне вивчити вплив на дію барбітуратів S-похідних 1,2,4-триазол-3-тіону та похідних тіазоло(3,2-в)-1,2,4-триазолу (сполуки 1-76, табл. 1).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. З цією метою нами було вивчено 3-(2-бромфеніл)-5-алкілсульфаніл-1Н-1,2,4-триазоли (сполуки 1-5), 2-(5-R-2Н-1,2,4-триазол-3-ілсульфаніл)-1-фенілетанони (сполуки 6-8, 44, 45), 5-(2-R-2Н-1,2,4-триазол-3-ілсульфаніл)-ацетатні кислоти та їх солі (сполуки 43-49), естери цих же кислот (сполуки 9-15, 50-53), гідразида та бензиліденгідразида (сполуки 16-26, 54-61), а також 2-R-6-R1-тіазоло(3,2-в)-1,2,4-триазоли (сполуки 27-30, 62-64) і 2-R-5-іліден-тіазоло(3,2-в)-1,2,4-триазол-6-они (сполуки 31-42, 65-77).

Для цього ми використали метод [2] дослідження взаємодії з барбітуратами та аналептиками синтезованих сполук.

Експериментальна частина

Досліди було проведено на інтактних білих щурах лінії Вістар різної статі масою 90-210 г (по 7 тварин у кожній серії). Контрольним групам вводили внутрішньочеревно етаміналнатрію в дозі 30 мг/кг, і час їх наркотичного сну брали за 100 %. Сполуки, які вивчали, розчиняли у фізіологічному розчині і вводили внутрішньочеревно, нерозчинні у воді сполуки вводили в шлунок у вигляді суспензії, стабілізованої твіном-80, у дозі 0,1 від ЛД₅₀ за допомо-

© О.І. Панасенко – к.фарм. н., 2004.

гою металевого зонда. Через 30 хв внутрішньочеревно вводили етаміналнатрію (30 мг/кг). Про час дії етаміналнатрієвого сну судили за терміном, протягом якого тварина перебувала у боковому положенні, точніше з моменту втрати рефлексу перевертання. Дослідження та аналіз отриманих експериментальних даних проводили, порівнюючи їх з еталонними препаратами: аміназином і кофеїном. Результати проведених експериментальних досліджень наведено в таблиці 1.

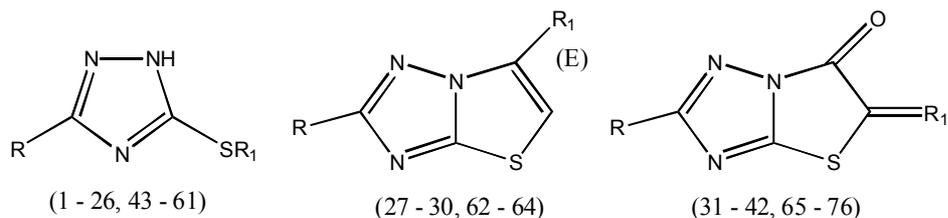
РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналізуючи дані, наведені в таблиці 1, робимо висновки, що 3-(2-бромфеніл)-5-алкілсульфаніл-1Н-1,2,4-триазоли (сполуки 1-5) малоактивні. Подовження алкільного ланцюга по тіогрупі призводить до появи нейротропної активності (сполуки 3-5).

Перехід до 2-[5-(2-бромфеніл-2Н-1,2,4-триазол-3-ілсульфаніл)]-1-фенілетанонів (сполуки 6-8) не супроводжується підвищенням активності сполук. Необхідно зауважити, що введення у фенільний радикал залишку кетону хлору (сполука 7) зумовлює появу нейротропної активності.

Естери [5-(2-бромфеніл-2Н-1,2,4-триазол-3-ілсульфаніл)]-ацетатної кислоти виявляють помірну нейролептичну активність (сполуки 9-15). Найбільш активною сполукою є ізопентиловий естер [5-(2-бромфеніл-2Н-1,2,4-триазол-3-ілсульфаніл)]-ацетатної кислоти (сполука 15), але за силою своєї дії він не перевищує еталон порівняння аміназин.

Бензиліденгідразида [5-(2-бромфеніл-2Н-1,2,4-триазол-3-ілсульфаніл)]-ацетатної кислоти (сполуки 16-26) виявляють вищу нейролептичну активність і за силою своєї дії на-

Таблиця 1 – Депримуюча активність S-похідних 1,2,4-триазол-3-тіону та похідних тіазоло(3,2-в)-1,2,4-триазолу



№ за/п	R	R1	Час сну, хв	У % до контролю
1	2	3	4	5
1	2-бромфеніл	C ₆ H ₇ -H	83,30±14,58	101
2	-	C ₆ H ₇ -i	84,00±6,02	102
3	-	C ₇ H ₁₅ -H	45,00±3,79	91
4	-	C ₅ H ₁₁ -H	77,00±3,79	94
5	-	C ₉ H ₁₉ -H	72,00±4,21	88
6	-	CH ₂ COC ₆ H ₅	88,00±5,66	107
7	-	CH ₂ COC ₆ H ₄ -Cl-п	74,00±4,41	90
8	-	CH ₂ COC ₆ H ₄ -NO ₂ -п	85,00±5,16	104
9	-	CH ₂ COOCH ₃	88,00±5,05	107
10	-	CH ₂ COOC ₂ H ₅	91,00±3,35	111
11	-	CH ₂ COOC ₃ H ₇ -H	93,00±4,21	113
12	-	CH ₂ COOC ₄ H ₉ -H	97,00±2,02	118
13	-	CH ₂ COOC ₄ H ₉ -i	94,00±3,84	114
14	-	CH ₂ COOC ₅ H ₁₁ -H	98,00±6,33	119
15	-	CH ₂ COOC ₅ H ₁₁ -i	101,00±3,07	123
16	-	CH ₂ CONHNCHC ₆ H ₄ -Br-п	101,00±5,51	123
17	-	CH ₂ CONHNCHC ₆ H ₄ OH-o	102,00±5,38	124
18	-	CH ₂ CONHNCHC ₆ H ₄ -OCH ₃ -п	110,00±5,17	134
19	-	CH ₂ CONHNCHC ₆ H ₄ -OCH ₃ -п	111,00±6,17	135
20	-	CH ₂ CONHNCHC ₆ H ₄ -NO ₂ -o	115,00±4,64	140
21	-	CH ₂ CONHNCHC ₆ H ₄ NO ₂ -м	108,00±4,61	132
22	-	CH ₂ CONHNCHC ₆ H ₄ -NO ₂ -п	104,00±4,92	127
23	-	CH ₂ CONHNCHC ₆ H ₄ -N(CH ₃) ₂ -п	80,00±4,47	97
24	-	CH ₂ CONHNCHC ₆ H ₄ -OH-2-Br-5	106,00±2,86	129
25	-	CH ₂ CONHNCHC ₆ H ₄ -OH-4-OCH ₃ -3	97,00±4,71	118
26	-	CH ₂ CONHNCHC ₆ H ₄ -(OCH ₃) ₂ -3,4	98,00±4,61	119
27	-	C ₆ H ₄ -Cl-п	98,70±3,66	120
28	-	C ₆ H ₄ -OH-п	119,00±5,12	145
29	-	C ₆ H ₄ -NO ₂ -п	112,0±6,5	136
30	-	C ₆ H ₄ -NH ₂ -п	118,00±7,37	144
31	-	CHC ₆ H ₄ -Br-п	103,00±5,53	125
32	-	CHC ₆ H ₄ -OCH ₃ -м	95,00±3,73	115
33	-	CHC ₆ H ₄ -OCH ₃ -п	96,00±4,51	117
34	-	CHC ₆ H ₄ -NO ₂ -o	99,00±6,3	121
35	-	CHC ₆ H ₄ -NO ₂ -м	103,00±7,33	125
36	-	CHC ₆ H ₄ -NO ₂ -п	101,00±5,45	123
37	-	CHC ₆ H ₄ -N(CH ₃) ₂ -п	102,00±6,44	124
38	-	CHC ₆ H ₃ -OH-2-Br-5	107,00±5,27	130
39	-	CHC ₆ H ₃ -OH-4-OCH ₃ -3	84,00±3,71	102
40	-	CHC ₆ H ₄ -(OCH ₃) ₂ -3,4	101,00±5,28	123
41	-	флуорен-9-іліден	76,00±4,58	93
42	-	2-оксо-1,2-дигідроіндол-3-іліден	79,00±4,62	96
43	2-фенілхінолін-4	H	107,90±9,55	131
44	-	CH ₂ COC ₆ H ₄ -Br-п	101,40±7,14	124
45	-	CH ₂ COC ₆ H ₄ -NO ₂ -п	89,10±3,97	109
46	-	CH ₂ COOH	96,00±5,56	117
47	-	CH ₂ COONa	114,30±6,17	139
48	-	K	118,60±4,58	144
49	-	NH ₄	90,30±5,72	110

1	2	3	4	5
50	-	CH ₂ COOC ₂ H ₅	81,00±3,75	99
51	-	CH ₂ COOC ₄ H ₉ -н	83,00±3,64	101
52	-	CH ₂ COOC ₃ H ₇ -і	81,90±3,36	99
53	-	CH ₂ COOC ₂ H ₅ -і	87,10±3,84	106
54	-	CH ₂ CONHNH ₂	101,40±4,76	124
55	-	CH ₂ CONHNCHC ₆ H ₅	94,00±3,47	115
56	-	CH ₂ CONHNCHC ₆ H ₄ OH-о	98,00±5,07	119
57	-	CH ₂ CONHNCHC ₆ H ₄ OCH ₃ -п	100,30±14,35	122
58	-	CH ₂ CONHNCHC ₆ H ₄ NO ₂ -м	103,10±15,39	126
59	-	CH ₂ CONHNCHC ₆ H ₄ NO ₂ -п	103,0±5,7	125
60	-	CH ₂ CONHNCHC ₆ H ₄ (NCH ₃) ₂ -п	104,00±4,84	127
61	-	CH ₂ CONHNCHC ₆ H ₄ OH-2-Br-5	109,10±15,95	133
62	-	C ₆ H ₅	92,00±3,56	112
63	-	C ₆ H ₄ -Br-п	104,30±7,14	127
64	-	C ₆ H ₄ NO ₂ -п	83,40±5,12	102
65	-	CHC ₆ H ₅	90,00±3,21	110
66	-	CHC ₆ H ₄ -Br-п	96,00±4,98	117
67	-	CHC ₆ H ₄ OH-о	80,00±2,06	97
68	-	CHC ₆ H ₃ OCH ₃ -п	92,29±13,05	112
69	-	CHC ₆ H ₄ NO ₂ -м	81,57±3,00	99
70	-	CHC ₆ H ₄ NO ₂ -п	87,29±13,91	106
71	-	CHC ₆ H ₄ N(CH ₃) ₂ -п	77,43±13,57	94
72	-	CHC ₆ H ₃ OH-2-Br-5	90,0±3,3	109
73	-	CHC ₆ H ₃ (OCH ₃) ₂ -3,4	100,10±3,07	122
74	-	2-оксо-1,2-дигідроіндол-3-іліден	64,43±3,34	78
75	-	2-оксо-1,2-дигідро-6-броміндол-3-іліден	74,14±2,51	90
76	-	2-оксо-1,2-дигідро-6-нітроіндол-3-іліден	72,29±2,58	88
Контроль (етаминал- натрію)			82,00±1,01	100,00
Аміназин			114,00±3,73	139
Кофеїн			46,00±3,92	56

ближаються до аміназину або залишаються на рівні аміназину (сполука 20). Винятком є неактивна сполука [23], що містить у залишку альдегідну диметиламіногрупу.

Похідні тiazоло(3,2-в)-1,2,4-триазолу (сполуки 27-30) виявляють високу нейролептичну активність. З чотирьох вивчених сполук одна наближається за силою своєї дії до аміназину (сполука 29), а дві (сполуки 28, 30) перевищують активність аміназину.

Перехід до похідних 5-бензиліден-2-(2-бромфеніл)-tiazоло(3,2-в)-1,2,4-триазол-6-ону (сполуки 31-42) супроводжується деяким зниженням активності сполук порівняно з похідними tiazоло(3,2-в)-1,2,4-триазолу (сполуки 27-30). Необхідно зауважити, що в цьому випадку введення атомів бром у залишки альдегідів підвищує нейролептичну активність (сполуки 31, 38), а введення залишків флуорену та ізатину знижує її (сполуки 41, 42).

Сполуки, що містять як замісник залишок 2-фенілхіноліну (сполуки 43-77), виявляють дещо вищу нейролептичну активність порівняно зі сполуками, які містять залишок 2-бромфенілу (сполуки 1-42). 1-Арил-2-[5-(2-бромфенілхінолін-4-іл)-2Н-1,2,4-триазол-3-ілсуль-

фаніл]-етанони (сполуки 44, 45) виявляють нижчу нейролептичну активність, ніж 5-(2-фенілхінолін-4-іл)-1,2,4-триазол-3-іон (сполука 43), але і в цьому випадку введення атома бром у залишок кетону (сполука 44) підвищує нейролептичну активність.

5-(2-Фенілхінолін-4-іл)-2Н-1,2,4-триазол-3-ацетатна кислота (сполука 46) та її амонійна сіль (49) виявляють помірну нейролептичну активність. Натрієва (47) і калієва (48) солі за силою своєї нейролептичної активності рівні аміназину.

Естери 5-(2-фенілхінолін-4-іл)-2Н-1,2,4-триазол-3-ацетатної кислоти (сполуки 50-53) практично не активні.

Гідразид (сполука 54) та бензиліденгідразиди 5-(2-фенілхінолін-4-іл)-2Н-1,2,4-триазол-3-ацетатної кислоти (сполуки 55-61) виявляють помірну нейролептичну активність. Але і в цьому випадку наявність атома бром у молекулі сполуки 61 підвищує її активність.

Дана закономірність зберігається і в похідних 2-феніл-4-(6-арилtiazоло-(3,2-в)-1,2,4-триазол-2-іл)-хіноліну (сполуки 62-64), в яких сполука 63, яка містить атом бром, виявляє найбільшу активність.

Що стосується депримуючої активності похідних 5-іліден-2-(2-фенілхінолін-4-іл)-тіазоло(3,2-в)-1,2,4-триазол-6-онів, то вони практично не активні, за винятком сполук 63 та 74, що можна пояснити важкою розчинністю цих сполук у воді та органічних розчинниках. Таким чином, проведені нами дослідження депримуючої активності серед S-похідних 1,2,4-триазол-3-тіону та похідних тіазоло(3,2-в)-1,2,4-триазолу дозволяють зробити висновок про

перспективність пошуку речовин з депримуючою активністю в цьому ряді сполук.

ВИСНОВОК. Вивчено нейролептичну і аналептичну активність S-похідних 1,2,4-триазол-3-тіону та похідних тіазоло(3,2-в)-1,2,4-триазолу, виявлено деякі закономірності взаємозв'язку між хімічною будовою і нейролептичною та аналептичною активністю синтезованих сполук.

ЛІТЕРАТУРА

1. Н.А. Авраменко, Л.Г.Черковская, И.Ф. Белевичев. Синтез и свойства 1-алкил, 1-метилкарбоксих-4-амино(алкиламино)-1,2,4-триазолия // Вісн. фармації. – 1999. – № 2. – С. 36-39.
2. Гацура В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. – М.: Медицина, 1974. – 143 с.
3. Пат. 23260 Україна, МПК С 07 D 249/08 А 61 К 31/41. Бромід-1- пентил-4-(п-метоксibenзиліде-но)-1,2,4-триазолію проявляє спазмолітичну активність / Мазур І.А., Авраменко М.О., Нестерова Н.О.,

- Фаворитов В.М., Дунаєв В.В., Візір В.А. – № 97041912; Заявл. 22.4.97; Опубл. 31.8.98. – 4 с.
4. Чепель П.В., Панасенко А.И., Кныш Е.Г. Синтез и противомикробная активность некоторых 2-илиден-1,2,4-тиазоло(3,4-В)тиазол-3(2Н)-онов // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. – Запоріжжя, 1999. – Вип. 5. – С. 270-272.
5. Чепель П.В., Панасенко О.І., Буряк В.П. 1,2,4-триазоліл-5-тіооцтові кислоти і їх ефіри як біологічно активні речовини // Мед. хімія. – 2002. – 4, № 1. – С. 68-69.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НА ДЕЙСТВИЕ БАРБИТУРАТОВ S-ПРОИЗВОДНЫХ 1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТИОНА И ПРОИЗВОДНЫХ ТИАЗОЛО(3,2-В)-1,2,4-ТРИАЗОЛА

А.И. Панасенко

ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Изучена нейролептическая и аналептическая активность S-производных 1,2,4-триазол-3-тиона и производных тиазоло(3,2-в)-1,2,4-триазола, выявлены некоторые закономерности взаимосвязи между химическим строением и нейролептической и аналептической активностью синтезированных соединений.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: 1,2,4-триазолы, бензилиденгидразиды, нейролептическая, аналептическая активность.

THE STUDY OF INFLUENCE OF 1,2,4-TRIAZOLE-3-THION S-DERIVATIVES AND THIAZOLE (3,2-B)-1,2,4-TRIAZOLE DERIVATIVES ON THE ACTION OF BARBITURATES

O.I. Panasenko

ZAPORIZHZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

It was studied the neuroleptic and analeptic activity of 1,2,4-triazole-3-thion S-derivatives and thiazole (3,2-B)-1,2,4-triazole derivatives, there were found some conformities of correlation between chemical structure and neuroleptic and analeptic activity of the synthesized compounds.

KEY WORDS: 1,2,4-triazoles, benziliden hydrazides, neuroleptic and analeptic activity.

Отримано 21.11.2003 р.

Адреса для листування: О.І. Панасенко, вул. Дніпровські пороги, 35, кв. 152, Запоріжжя, 69121, Україна.

ВПЛИВ ПОСТІЙНОГО ОСВІТЛЕННЯ І МЕЛАТОНІНУ НА БІЛОК ГЛІАЛЬНИХ ПРОМІЖНИХ ФІЛАМЕНТІВ У РІЗНИХ ВІДДІЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ

В.С. Недзвецький, П.О. Неруш¹

*ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ¹*

Досліджено вплив дефіциту продукції мелатоніну в умовах довготривалого постійного освітлення на стан проміжних філаментів гліальних клітин. Виявлено, що постійне освітлення викликає зміни кількості і поліпептидного складу білка гліальних проміжних філаментів. Такі цитоскелетні перебудови свідчать про розвиток астрогліозу. В умовах постійного освітлення в нервовій тканині зростає переокиснення ліпідів і знижується рівень глутатіону відновленого. Введення мелатоніну (10 мг/кг) сприяє зниженню дії оксидативного стресу в гліальних клітинах і гальмуванню надмірного розвитку реактивного гліозу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: проміжні філаменти, гліальний фібрилярний кислий білок, мелатонін.

ВСТУП. Багато нейродегенеративних захворювань супроводжуються молекулярними ушкодженнями за участю вільних радикалів, що призводить до загибелі нейронів і гліальних клітин [8]. Нейродегенеративні захворювання і вплив оксидативного стресу характеризуються розвитком збіжних патологічних процесів [12, 36]. Вільні радикали розглядають як важливу причину ушкоджень [3, 10]. Нервова тканина винятково чутлива до оксидативного стресу, оскільки характеризується високим рівнем утилізації O_2 і відносно низьким вмістом антиоксидантних ферментів [27, 28].

В умовах надмірної генерації реактивних сполук кисню (РСК), що переважає над здатністю антиоксидантів нейтралізувати РСК, виникають ушкодження нервових клітин і, як наслідок, їх дисфункція. Залучення розширеної генерації РСК у нейродегенеративні процеси дозволяє припустити центральну роль антиоксидантів у запобіганні розвитку таких процесів.

Нейротоксичні ефекти вільних радикалів можуть бути компенсовані деякими сполуками, наприклад антиоксидантами. Недавні дослідження показали, що мелатонін є ефективним антиоксидантом і нейропротекторним агентом

© В.С. Недзвецький – д.мед.н., проф., П.О. Неруш – к.біол.н., 2004.

in vivo [15, 35] та in vitro [4, 22]. Він синтезується різними типами клітин, але найбільша його частина продукується в гіпофізі, звідки експортується в кров'яне русло [31].

Велику кількість досліджень впливу оксидативного стресу й антиоксидантних ферментів у ЦНС сконцентровано на нейронах. Ми припускаємо, що, оскільки мелатонін забезпечує захисну дію в нейронах при оксидативному стресі, подібну корисну дію він може виявляти також і в астроцитах. Астроцити мають високу здатність до детоксикації РСК, тому що в них значно більший рівень глутатіону і вітаміну Е, ферментів, залучених до метаболізму глутатіону, та вища активність супероксиддисмутази порівняно з нейронами [17, 26, 34]. Хімічний і механічний інсульт мозку викликає тривалі зміни в астроцитах, що реактивно відповідають на несприятливі впливи. Реактивні астроцити характеризуються збільшеним фібрилогенезом, інтенсивною проліферацією, гіпертрофією і змінами енергетичного метаболізму [24].

У нашій роботі ми досліджували протекторну дію фармакологічних доз мелатоніну на гліальні клітини за допомогою визначення цитоскелетного маркера астроцитів – гліального фібрилярного кислого білка (ГФКБ) – у різних ділянках мозку щурів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на щурах лінії Wistar масою (200 ± 20) г. Тварин було поділено на три групи. Щури контрольної групи ($n=8$) щодня одержували ін'єкцію фізрозчину і утримувалися в умовах постійної температури (24 ± 2) °C і контрольованої довжини світлового дня (12 год/12 год – освітлення/темрява). Дві інші групи тварин перебували в умовах постійного освітлення 250 люкс протягом 7 днів. Щури 2-ї групи отримували ін'єкцію розчину мелатоніну (10 мг/кг), 3-ї групи – тільки розчинник (фізрозчин з 1 % етанолом) щодня в один і той самий час.

Тварин усіх трьох груп було декапітовано за 7 днів від початку експерименту. Зразки тканини гіпокампу, кори великих півкуль і мозочка використано для визначення рівня перекисного окиснення ліпідів і загального глутатіону відновленого. Вміст продукту перекисного окиснення ліпідів, малонового діальдегіду (МДА), визначали методом, запропонованим Okhava et al. [21], глутатіону відновленого – методом Tietre [38] у модифікації Richi et al. [32].

Фракції білків одержували з тканини гіпокампу, кори великих півкуль і мозочка, як описано раніше [1, 2]. ДСН-ПААГ електрофорез проводили в градієнті поліакриламіді 7,5-17,5 % [16]. Поліпептидний склад ГФКБ визначали методом імуноблотингу з використанням моноспецифічної антисироватки, як описано раніше [1]. Вміст загального білка в екстрактах – методом Лоурі в модифікації Міллера [18]. Визначення відносної інтенсивності поліпептидних зон проводили за допомогою комп'ютерної обробки сканованих результатів імуноблотингу і пакета програм "STATISTICA".

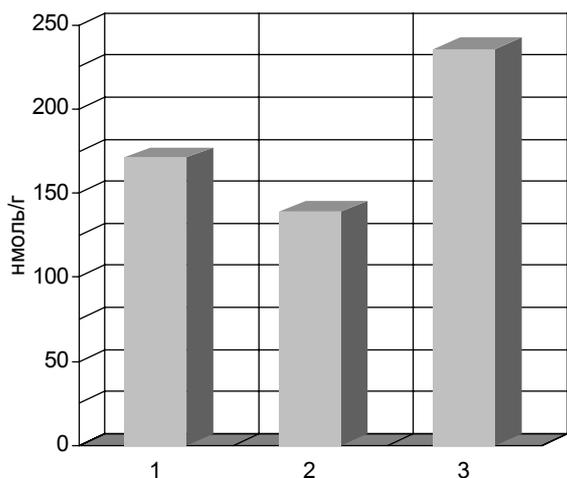


Рис. 1. Вміст МДА в мозку щурів контрольної групи (1), щурів, яких утримували в умовах постійного освітлення (3), та групи тварин, які додатково отримували ін'єкцію мелатоніну (2).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Рівень МДА в тканині мозку групи щурів, яких утримували в умовах постійного освітлення, був вищим, ніж у контрольній групі й групі тварин, які отримували ін'єкцію мелатоніну ($p < 0,01$ і $p < 0,05$ відповідно) (рис. 1). І навпаки, рівень глутатіону відновленого був значно нижчим, ніж у контролі ($p < 0,01$) і групі тварин, які одержували мелатонін ($p < 0,05$) (рис. 2). Таким чином, тривале постійне освітлення призводить до зростання перекисного окиснення і зниження активності антиоксидного ферменту глутатіонпероксидази в мозку, як це було показано раніше [5]. Введення мелатоніну, як свідчать наші результати, підвищує рівень глутатіону відновленого й активність глутатіонпероксидази в мозку щурів.

Рівень білка гліальних проміжних філаментів і поліпептидний склад визначали в трьох білкових фракціях (розчинній, цитоскелетній і мембранній) гіпокампу, кори великих півкуль і мозочка. У мозочку і гіпокампі щурів, яких утримували в умовах постійного освітлення виявлене значне підвищення вмісту ГФКБ (рис. 3). У мозочку тварин цієї групи визначалось збільшення рівня ГФКБ у мембранній ($p < 0,01$) і цитоскелетній ($p < 0,05$) фракцій, а також загального вмісту ГФКБ ($p < 0,001$), порівняно з контрольною групою (рис. 4-5). Поряд з інтактним поліпептидом (49 кДа) найбільш інтенсивні продукти деградації виявлено в мозочку і корі великих півкуль щурів, які перебували в умовах постійного освітлення (рис. 3).

Незначні відмінності вмісту ГФКБ у всіх трьох фракціях було виявлені між контрольною групою і групою щурів, які отримували ме-

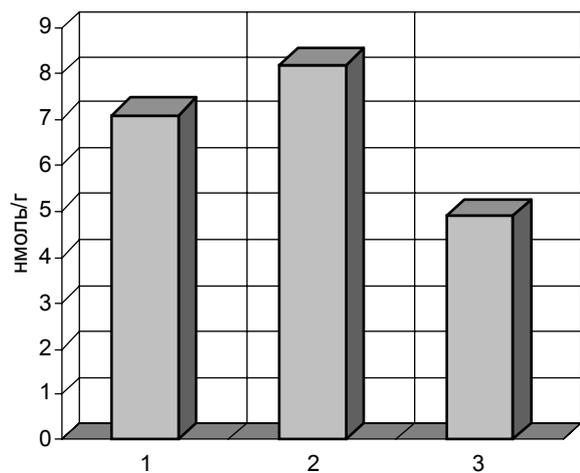


Рис. 2. Вміст глутатіону відновленого в мозку щурів контрольної групи (1), щурів, яких утримували в умовах постійного освітлення (3), та групи тварин, які додатково отримували ін'єкцію мелатоніну (2).

латонін. Введення препарату протягом 7 днів призводило до зниження загальної кількості ГФКБ і деградованих поліпептидів в усіх досліджуваних відділах. У корі великих півкуль значних змін вмісту ГФКБ не виявлено, але в цих фракціях визначалось збільшення кількості продуктів деградації ГФКБ в умовах постійного освітлення. У цьому відділі введення мелатоніну також знижувало вміст ГФКБ і кількість деградованих поліпептидів.

Окремі пули ГФКБ регулюються різними механізмами в ході гліальної реактивності. Цитоскелетна фракція містить в основному нерозчинний філаментний ГФКБ. Розчинна і мембранна фракції – цитоплазматичний і асоційований з мембранними структурами ГФКБ. Усі три фракції є функціонально зв'язаними і по-різному регульованими в ході впливу, що індукує астрогліальну реактивність. У нашій роботі ми оцінювали зміни ГФКБ усіх трьох фракцій в умовах постійного освітлення та введення фармакологічних доз мелатоніну.

Отримані дані показують, що тривале постійне освітлення призводить до підвищення рівня ГФКБ у різних відділах мозку. Крім того, утримування тварин у цих умовах індукує посилену деградацію ГФКБ. Введення мелатоніну має зворотний ефект – знижує загальний рівень ГФКБ і кількість деградованих продуктів. Таким чином, пригнічення синтезу мелатоніну в умовах постійного освітлення може впливати на регуляцію експресії ГФКБ і підвищувати інтенсивність деградації гліальних філаментів, збільшуючи кількість низькомолекулярних фрагментів цього білка.

Реактивний астрогліоз – реакція астроцитів на дію різних ушкоджувальних факторів, фізичний і хімічний інсульт [24], а також деякі патологічні стани [1]. Така реактивна гліальна відповідь характеризується інтенсивним фібрилогенезом і підвищенням експресії ГФКБ [13, 14]. Оксидативний стрес, що індукується деякими

ушкодженнями мозку, безпосередньо впливає на транскрипцію ГФКБ у ході реактивного гліозу [20]. Показано, що інтенсивність імунозabarвлення завжди корелює з кількістю ГФКБ і зростанням генної активності [11]. Підвищення експресії ГФКБ розглядають як маркер, що відображає гліальні ушкодження. Рівень ГФКБ пропонують використовувати як показник мозкової травми, індукованої РСК.

Тривале постійне освітлення призводить до підвищення перекисного окиснення і зниження активності антиоксидних ферментів у мозку [5, 23]. Пінеалектомія також спричиняє підвищення перекисного окиснення в нервовій тканині [6, 30]. Мелатонін здатний безпосередньо зв'язувати вільні радикали і виступає непрямим антиоксидантом, що може знижувати нейротоксичний ефект оксидативного стресу [23, 37]. Відомо, що постійне освітлення пригнічує синтез мелатоніну і сприяє зменшенню його концентрації в крові [23]. Наслідком останнього може бути підвищення генерації РСК, яке індукує нейрональні ушкодження. Отримані результати узгоджуються з припущенням, що зростання експресії ГФКБ в умовах постійного освітлення і зниження рівня ГФКБ при введенні мелатоніну є безпосередньою відповіддю астроцитів на оксидативний стрес.

Відомо, що концентрація циркулюючого мелатоніну знижується з віком [25, 29]. Разом із тим, підвищення експресії ГФКБ у ході старіння може бути пов'язане з оксидативним стресом. Пінеалектомія у щурів раннього віку призводить до більш значних нейрональних ушкоджень, ніж у старих тварин [30]. Таким чином, зростання реактивної астроцитарної активності з віком може бути пов'язане з поступовим зниженням рівня мелатоніну.

Передбачається, що механізм протекторної дії мелатоніну на виживаність нейронів опосередкований його впливом на гліальні клітини [33]. Експериментальні дослідження підтвер-

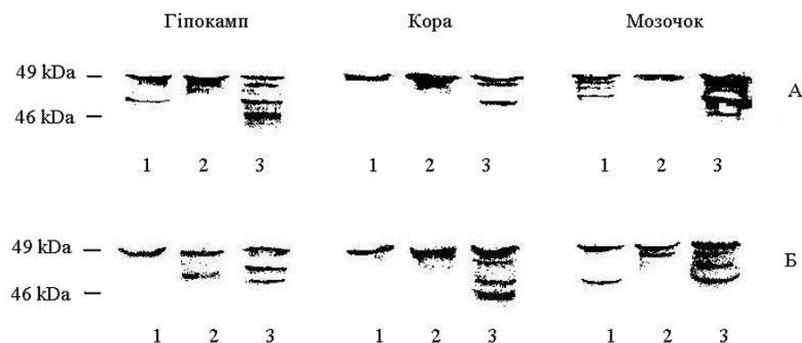


Рис. 3. Імуноблотинг цитоскелетної (А) і мембранної (Б) фракцій ГФКБ гіпокампу, кори великих півкуль та мозочка щурів контрольної групи (1), щурів, яких утримували в умовах постійного освітлення (2), та групи тварин, які додатково отримували ін'єкцію мелатоніну (3).

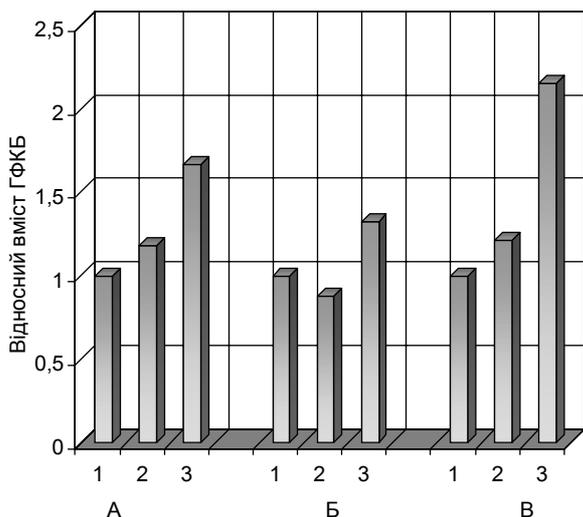


Рис. 4. Відносний вміст ГФКБ цитоскелетної фракції в гіпокампі (А), корі великих півкуль (Б) та мозочку (В) щурів контрольної групи (1), щурів, яких утримували в умовах постійного освітлення (3), та групи тварин, які додатково отримували ін'єкцію мелатоніну (2).

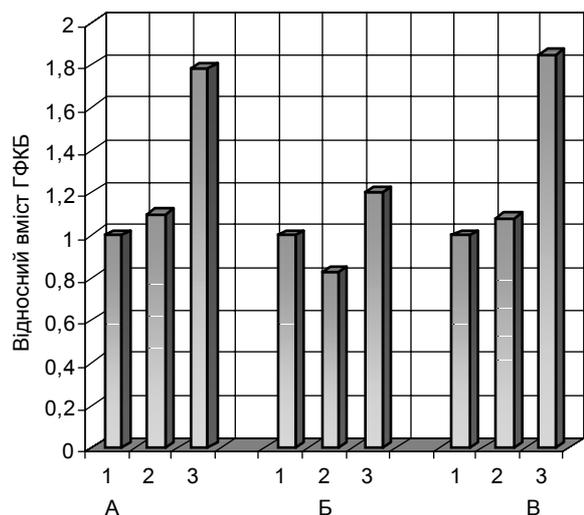


Рис. 5. Відносний вміст ГФКБ цитоскелетної фракції в гіпокампі (А), корі великих півкуль (Б) та мозочку (В) щурів контрольної групи (1), щурів, яких утримували в умовах постійного освітлення (3), та групи тварин, які додатково отримували ін'єкцію мелатоніну (2).

джують активну роль гліальних клітин в інтегративних процесах нервової системи. Роль гліальних клітин в інтеграції нервових клітин і дегенеративних процесах не цілком зрозуміла, але накопичені дані свідчать про те, що глія має вирішальне значення для виживання нейронів. Глутатіонпероксидазу виявляють переважно в астроцитах [9]. Астроцити також містять більшу кількість глутатіону відновленого, ніж нейрони [7]. Вони мають фізіологічні й метаболічні властивості, які відіграють життєво важливу роль у підтримці нормального гомеостазу в мозку. Астроцити беруть активну участь у нейрональному розвитку й інтеграції мозкових функцій, включаючи напрямок росту

нейритів, структурну і функціональну підтримку нейронів [19].

ВИСНОВКИ. Збереження рівня внутрішньоклітинного глутатіону відновленого і активності глутатіонпероксидази в умовах введення мелатоніну є важливим для протекції нейронів і глії від ушкоджень. Антиоксидні властивості мелатоніну, що підвищує антиоксидну здатність клітин нервової тканини і гальмує надмірний розвиток астрогліозу, вказують на те, що, можливо, цей препарат є корисним терапевтичним агентом у захисті астроглії, як і нейронів, від ушкодження вільними радикалами.

ЛІТЕРАТУРА

- Недзвецкий В.С., Березин В.А., Оберняк Т.И. и др. Характеристика специфических белков промежуточных филаментов в опухолях головного мозга человека // Биохимия. – 1986. – **51**, № 11. – С. 1843-1850.
- Недзвецкий В.С., Неруш П.А., Кириченко С.В. Влияние мелатонина на поведенческие реакции и экспрессию молекулы адгезии нервных клеток // Нейрофизиология. – 2003. – **35**, № 2. – С. 111-117.
- Almili L.M., Hamrick S.E., Koshy A.A. et al. Multiple pathways of neuroprotection against oxidative stress and excitotoxic injury in immature primary hip-

posampal neurons // Dev. Brain Res. – 2001. – **132**. – P. 121-129.

4. Baydas G., Canatan H. Comparative analysis of antioxidant effects of melatonin and vitamin E on H₂O₂-generated lipid peroxides in tissue homogenates // J. Pineal. Res. – 2002. – **32**. – P. 225-230.

5. Baydas G., Ercel E., Canatan H. et al. Effect of melatonin on oxidative status of rat brain, liver and kidney tissues under constant light exposure // Cell Biochem. Funct. – 2001. – **19**. – P. 37-41.

6. Baydas G., Gursu M.F., Yilmaz S. et al. Daily rhythm of glutathione peroxidase activity, lipid per-

oxidation and glutathione levels in tissues of pinealectomized rats // *Neurosci. Lett.* – 2002. – **325**. – P. 195-198.

7. Benzi G., Moretti A. Age- and peroxidative stress-related modifications of the cerebral enzymatic activities linked to mitochondria and the glutathione system // *Free Radic. Biol. Med.* – 1995. – **19**. – P. 77-101.

8. Coyle J.T., Puttfarcken P. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders // *Science.* – 1993. – **262**. – P. 689-695.

9. Damier P., Hirsch E.C., Zhang P. et al. Glutathione peroxidase, glial cells and Parkinson's disease // *Neuroscience.* – 1993. – **52**. – P. 1-6.

10. Donder E., Baydas G., Sokmen S. et al. Investigation of antioxidant and glucometabolic effects of melatonin in experimental diabetes mellitus // *Biomed. Res.* – 1999. – **10**. – P. 127-132.

11. Eng L.F., Ghirnikar R.S., Lee Y.L. Glial fibrillary acidic protein: GFAP – thirty one years (1969-2000) // *Neurochem. Res.* – 2000. – **25**, № 9/10. – P. 1439-1451.

12. Ercel E., Baydas G., Akyol A. et al. The effect of vitamin E on the sciatic nerve lipid peroxidation in streptozotocin induced diabetes mellitus // *Biomed. Res.* – 1999. – **10**. – P. 95-101.

13. Janeczko K. Co-expression of GFAP and vimentin in astrocytes proliferating in response to injury in the mouse cerebral hemisphere. A combined autoradiographic and double immunocytochemical study // *Int. J. Dev. Neurosci.* – 1993. – **11**. – P. 139-147.

14. Janeczko K. Spatiotemporal patterns of the astroglial proliferation in rat brain injured at the postmitotic stage of postnatal development: a combined immunocytochemical and autoradiographic study // *Brain Res.* – 1989. – **485**. – P. 236-243.

15. Kilic E., Hermann D.M., Iseemann S. et al. Effects of pinealectomy and melatonin on the retrograde degeneration of retinal ganglion cells in a novel model of intraorbital optic nerve transection in mice // *J. Pineal. Res.* – 2002. – **32**. – P. 106-111.

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

17. Makar T.K., Nedergaard M., Preuss A. et al. Vitamin E, ascorbate, glutathione disulfide and enzymes of glutathione metabolism in cultures of chick astrocytes and neurons: evidence that astrocytes play an important role in antioxidative processes in the brain // *J. Neurochem.* – 1994. – **62**. – P. 45-53.

18. Miller G.L. Protein determination for large numbers of samples // *Anal. Chem.* – 1959. – **31**, № 5. – P. 964-966.

19. Moonen G., Rogister B., Leprince P. et al. Neuro-glial interactions and neural plasticity // *Prog. Brain Res.* – 1990. – **86**. – P. 63-73.

20. Morgan T.E., Rozovsky I., Goldsmith S.K. et al. Increased transcription of the astrocyte gene GFAP during middle-age is attenuated by food restriction: implications for the role of oxidative stress // *Free Radic. Biol. Med.* – 1997. – **23**. – P. 524-528.

21. Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // *Anal. Biochem.* – 1979. – **95**. – P. 351-358.

22. Osuna C., Reiter R.J., Garcia J.J. et al. Inhibi-

tory effect of melatonin on homocysteine-induced lipid peroxidation in rat brain homogenates // *Pharmacol. Toxicol.* – 2002. – **90**. – P. 32-37.

23. Pablos M.I., Reiter R.J., Ortiz G.G. et al. Rhythms of glutathione peroxidase and glutathione reductase in brain of chick and their inhibition by light // *Neurochem. Int.* – 1998. – **32**. – P. 69-75.

24. Papadopoulos M.C., Koumenis I.L., Yuan T.Y. et al. Primary cortical glial reaction versus secondary thalamic glial response in the excitotoxically injured young brain: astroglial response and metallothionein expression // *Neuroscience.* – 1999. – **92**. – P. 827-839.

25. Poeggeler B., Reiter R.J., Tan D.X. et al. Melatonin, hydroxyl radical-mediated oxidative damage, and aging: a hypothesis // *J. Pineal. Res.* – 1993. – **14**. – P. 151-168.

26. Raps S.P., Lai J.C., Hertz L. et al. Glutathione is present in high concentrations in cultured astrocytes but not in cultured neurons // *Brain Res.* – 1989. – **593**. – P. 398-401.

27. Reiter R.J. Oxidative damage in the central nervous system: protection by melatonin // *Pro. Neurobiol.* – 1998. – **56**. – P. 359-384.

28. Reiter R.J. Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain // *FASEB J.* – 1995. – **9**. – P. 526-533.

29. Reiter R.J. The aging pineal gland and its physiological consequences // *Biol. Essays.* – 1992. – **14**. – P. 169-175.

30. Reiter R.J., Tan D.X., Kim S.J. et al. Augmentation of indices of oxidative damage in life-long melatonin-deficient rat // *Mech. Aging Dev.* – 1999. – **110**. – P. 157-173.

31. Reiter R.J., Tan D.X., Osuna C. et al. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress: a review // *J. Biomed. Sci.* – 2000. – **7**. – P. 444-458.

32. Richie J.P.Jr., Skowronski L., Abraham P. et al. Blood tGSH concentrations in a large-scale human study // *Clin. Chem.* – 1996. – **42**. – P. 64-70.

33. Ridet J.L., Malhorta S.K., Privat A. et al. Reactive astrocytes: cellular and molecular cues to biological function // *Trends Neurosci.* – 1997. – **20**, № 12. – P. 570-577.

34. Savolainen H. Superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in rat brain // *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* – 1978. – **21**. – P. 173-176.

35. Shen Y.X., Xu S.Y., Wang X.L. et al. Melatonin blocks rat hippocampal neuronal apoptosis induced by amyloid beta-peptide 25-35 // *J. Pineal. Res.* – 2002. – **32**. – P. 163-167.

36. Smith M.A., Pottkamp C.A., Nunomura A. et al. Oxidative stress in Alzheimer disease // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2001. – **1502**. – P. 139-144.

37. Tan D.X., Reiter R.J., Manchester L.C. et al. Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger // *Cur. Topics. Med. Chem.* – 2002. – **2**. – P. 181-198.

38. Tietze F. Enzymatic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized tGSH applications to mammalian blood and other tissues // *Anal. Biochem.* – 1969. – **27**. – P. 502-522.

ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОГО ОСВЕЩЕНИЯ И МЕЛАТОНИНА НА БЕЛОК ГЛИАЛЬНЫХ ПРОМЕЖУТОЧНЫХ ФИЛАМЕНТОВ В РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

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

Резюме

Исследовано влияние дефицита продукции мелатонина в условиях длительного постоянного освещения на состояние промежуточных филаментов глиальных клеток. Выявлено, что постоянное освещение вызывает изменения количества и полипептидного состава белка глиальных промежуточных филаментов. Такие цитоскелетные преобразования свидетельствуют о развитии астроглиоза. В условиях постоянного освещения в нервной ткани возрастает перекисное окисление липидов и снижается уровень глутатиона восстановленного. Введение мелатонина (10 мг/кг) способствует снижению действия оксидативного стресса в глиальных клетках и торможению чрезмерного развития реактивного глиоза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: промежуточные филаменты, глиальный фибриллярный кислый белок, мелатонин.

THE EFFECT OF CONSTANT LIGHT AND MELATONIN ON PROTEIN OF GLIAL INTERMEDIATE FILAMENTS IN DIFFERENT REGIONS OF RAT BRAIN

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

Summary

The effect of constant lighting and melatonin on state of glial intermediate filaments of rat brain was investigated. The results of experiment showed that there were both a rising of GFAP polypeptides degradation and an increasing of common glial intermediate filaments amount under long term lighting treatment. Melatonin administration (10 mg/kg) caused a reduction of degraded GFAP content. In addition to this result, the injection of melatonin significantly reduced neural tissue lipid peroxidation while constant light enhanced the breakdown of lipids in the brain. These results suggest that melatonin potentially protects glial cells from free radicals, melatonin protective action are probably related to the antioxidant properties of this indole.

KEY WORDS: intermediate filaments, glial fibrillary acidic protein (GFAP), melatonin.

Отримано 21.11.2003 р.

Адреса для листування: В.С. Недзвецкий, вул. Героїв Сталінграду, 45, кв. 14, Дніпропетровськ, 49055, Україна.

ОЦІНКА ЛІПІДНОГО КОМПЛЕКСУ СИРОВАТКИ КРОВІ Й ЖОВЧІ ПРИ ТОКСИЧНИХ УРАЖЕННЯХ ПЕЧІНКИ

Н.В. Великая, В.І. Ципріян, Т.С. Брюзгіна
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

У статті наводяться результати газохроматографічного аналізу жирнокислотного складу ліпідів і рівня вільного холестерину в сироватці крові та жовчі хворих з токсичними ураженнями печінки. Отримані дані свідчать про те, що підвищення рівня поліненасичених жирних кислот у крові може бути прогностичним критерієм змін цього показника в жовчі.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: хронічний холецистит, гастродуоденіт, ліпіди, жирні кислоти, холестерин, сироватка крові, жовч.

ВСТУП. Гепатобіліарна система у організмі людини є основним місцем, яке бере участь у обміні ліпідів [5], тому будь-який патологічний процес, що зумовлює порушення функції печінки і жовчовивідних шляхів (ЖВШ), супроводжується змінами показників ліпідного обміну [2].

Різноманітність функцій гепатоцитів призводить до того, що при їх патології відбувається порушення багатьох біохімічних констант, однак, незважаючи на чисельність біохімічних процесів, що перебігають у клітинах печінки, зміни далеко не всіх із них мають діагностичне значення [6].

Запальні процеси в організмі, що викликаються різними факторами, мають у своїй основі процеси деструкції мембран і клітин, які визначають характер і ступінь захворюваності [3, 4].

Оскільки вищі жирні кислоти (ЖК) і вільний холестерин (ХС) є структурними елементами біологічних мембран, то якісні й кількісні їх зміни можна розглядати як порушення метаболізму ліпідів клітинних мембран.

Висока метаболічна активність ненасичених ЖК, участь їх у структурно-функціональних взаємозв'язках біологічних мембран визначають важливість вивчення цього класу ліпідів при патологічних станах.

Метою наших досліджень було вивчення жирнокислотного складу ліпідів і рівня вільного ХС у сироватці крові й жовчі у хворих з захворюваннями печінки і ЖВШ шляхів, викликаних умовами роботи з шкідливими токсичними речовинами.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 19 хворих віком 35-45 років з діагнозом "хронічний

© Н.В. Великая – к.мед.н., В.І. Ципріян – д.мед.н., проф., Т.С. Брюзгіна – к.техн.н., 2004.

холецистит і гастродуоденіт". До контрольної групи ввійшли 15 практично здорових осіб тієї ж вікової групи. Діагноз встановлювали з урахуванням клінічних, анамнестичних, біохімічних та інструментальних даних.

Для порівняння було обстежено 81 особу середнього віку – 45 років, які склали 3 групи. Умови їх роботи пов'язані з впливом токсичних хімічних речовин (1-ша група – пожежники, 2-га – ліквідатори, 3-тя – пожежники, отруєні Трифлоном).

Газохроматографічне визначення жирнокислотного спектра ліпідів і рівня вільного ХС у сироватці крові й жовчі здійснювали методом газорідної хроматографії (ГРХ) [7].

У спектрі ЖК ліпідів крові й жовчі було ідентифіковано 6 найбільш інформативних ЖК: С16:0 – пальмітинова, С18:0 – стеаринова, С18:1 – олеїнова, С18:2 – лінолева, С20:4 – арахідонова, С22:6 – докозогексаєнова.

Піки ЖК ідентифікували шляхом порівняння з часом утримання стандартів ЖК. Кількісну оцінку ЖК ліпідів сироватки крові і жовчі проводили методом нормування площ шляхом вимірювання площ піків метильованих похідних ЖК і визначення їх вмісту у відсотках.

Кількісну оцінку рівня вільного ХС здійснювали методом абсолютного калібрування, ідентифікацію і кількісний розрахунок проводили за допомогою стандартного розчину ХС з концентрацією 1 мг/мл, чутливість визначення – 0,2 мкг/мкл. Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію t-Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати газохроматографічного аналізу ліпідів сироватки крові й жовчі наведено в таблиці 1.

При порівнюванні жирнокислотного складу ліпідів сироватки крові й жовчі контрольної групи можна відмітити достовірні відмінності у сумах насичених, ненасичених і поліненасичених жирних кислот (ПНЖК). Так, у сироватці крові насиченість ліпідного комплексу підвищується за рахунок пальмітинової та стеаринової ЖК. Рівень ПНЖК зумовлюється в основному лінолевою ЖК. На відміну від жовчі, в сироватці крові вміст олеїнової ЖК підвищений.

Жирнокислотний склад ліпідів жовчі контрольної групи характеризується підвищеною ненасиченістю ліпідного комплексу за рахунок високого вмісту лінолевої ЖК, яка зумовлює зростання рівня ПНЖК у жовчі.

Таким чином, жирнокислотні формули ліпідів сироватки й жовчі контрольної групи відрізняються між собою за насиченістю і рівнем ПНЖК, що, ймовірно, зумовлено фізіологічно.

При зіставленні жирнокислотного складу ліпідів сироватки крові хворих з контролем виявлено достовірні відмінності вмісту олеїнової ЖК (який знижується при запальних процесах в печінці і ЖВШ), лінолевої і арахідонової ЖК (збільшений вміст яких зумовлює вірогідне підвищення рівня ПНЖК і свідчить про порушення їх метаболізму на етапі утворення ейкозаноїдів), що добре узгоджується з літературними даними [1].

Таким чином, при запальних процесах в печінці і ЖВШ, викликаних шкідливими умовами роботи, спостерігаються зниження вмісту олеїнової ЖК та підвищення рівня ПНЖК у сироватці крові. При порівнюванні жирнокислотного складу ліпідів жовчі з контролем виявлено достовірні відмінності насиченості за рахунок пальмітинової ЖК. Вірогідне зменшення суми ПНЖК зумовлене різким зниженням рівня лінолевої ЖК на фоні підвищеного вмісту олеїнової та арахідонової ЖК. Такий стан жирнокислотного складу ліпідів жовчі при

запальних процесах у печінці і ЖВШ, викликаних шкідливими умовами роботи, може бути причиною збільшення цих показників у крові.

Достовірне зростання арахідонової ЖК і в сироватці крові, і в жовчі може бути прогностичним критерієм і свідчити про порушення метаболізму вищих ЖК на етапі утворення ейкозаноїдів [1].

У таблиці 2 наведено результати газохроматографічного аналізу жирнокислотного складу ліпідів сироватки крові обстежених осіб, які працювали в умовах впливу токсичних речовин при горінні полімерних матеріалів.

Отримані результати свідчать про те, що достовірні зміни жирнокислотного складу ліпідів сироватки крові спостерігаються в основному за рахунок олеїнової ЖК на тлі зниженого вмісту вільного ХС.

Тенденція до підвищення рівня арахідонової ЖК свідчить про порушення ліпідного метаболізму, викликане змінами в печінці в результаті токсичного впливу.

Такий стан жирнокислотного складу ліпідів сироватки крові може сприяти розвитку токсичного гепатиту.

ВИСНОВКИ. 1. При запальних процесах в печінці і ЖВШ, викликаних шкідливими умовами роботи, спостерігаються зниження вмісту олеїнової ЖК та підвищення рівня ПНЖК у сироватці крові.

2. Достовірне зростання вмісту арахідонової ЖК і в сироватці крові, і в жовчі може бути прогностичним критерієм і свідчити про порушення метаболізму вищих ЖК на етапі утворення ейкозаноїдів.

3. Вивчення ліпідних показників сироватки крові й жовчі хворих при токсичному ураженні печінки дозволили встановити, що зміни вищих ЖК в сироватці крові можуть свідчити про порушення метаболізму ліпідів у печінці у тих, хто працював в умовах токсичного ураження.

Таблиця 1 – Жирнокислотний склад ліпідів сироватки крові та жовчі при захворюваннях печінки і ЖВШ (у %)

Жирні кислоти	Сироватка		Жовч	
	Контроль	До лікування	Контроль	До лікування
Пальмітинова, С16:0	42,4±1,3	44,7±1,0	28,5±0,4	40,6±3,8*
Стеаринова, С18:0	16,1±1,0	11,7±0,6*	4,0±0,09	5,6±0,3
Олеїнова, С18:1	25,3±1,8	16,3±0,6*	6,6±0,2	12,4±0,6*
Лінолева, С18:2	15,2±1,0	22,8±1,6*	56,6±0,9	34,5±2,1*
Арахідонова, С20:4	1,00±0,05	4,5±0,4*	3,2±0,05	6,4±0,7*
Докозогексаєнова, С22:6	Сліди	Сліди	1,2±0,05	0,2±0,02*
Сума нас. ЖК	58,5±1,5	56,4±1,5	32,5±0,3	46,5±4,0*
Сума ненас. ЖК	41,5±1,5	43,6±1,5	67,5±0,3	53,5±4,0*
Сума ПНЖК	16,2±1,8	27,3±1,8*	60,9±0,4	41,1±3,8*
Вміст ХС, мг/мл	0,034±0,020	0,032±0,005	0,089±0,01	0,122±0,03*

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

Таблиця 2 – Жирнокислотний склад ліпідів сироватки крові (у %)

Жирні кислоти	Контроль сироватки	1-ша група	2-га група	3-тя група
Пальмітинова, C16:0	42,4±1,3	56,4±0,8*	52,6±1,2*	52,4±2,0*
Стеаринова, C18:0	16,1±1,0	11,6±0,3*	13,4±0,2*	10,5±0,5*
Олеїнова, C18:1	25,3±1,8	18,4±0,6*	19,0±0,8*	21,6±0,7*
Лінолева, C18:2	15,2±1,0	12,2±0,7*	13,1±1,4*	14,3±1,2
Арахідонова, C20:4	1,00±0,05	1,4±0,4	1,90±0,55*	1,2±0,4
Сума нас. ЖК	58,5±1,5	68,0±0,6*	66,0±1,3*	62,9±1,6*
Сума ненас. ЖК	41,5±1,5	32,0±0,6*	34,0±1,3*	37,1±1,6*
Сума ПНЖК	16,2±1,8	13,6±1,0*	15,0±1,4	15,5±1,1
Вміст ХС, мг/мл	0,034±0,020	0,009±0,001*	0,011±0,001*	0,021±0,002*

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

ЛІТЕРАТУРА

1. Афонина Г.Б., Куюн Л.А. Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ. К.: НМУ, 2000. – 285 с.
2. Блюгер А.Ф., Майоре А.Я. Роль нарушений функций мембран в патологии печени // Биомембраны. – Рига, 1981. – С. 185-195.
3. Бурлакова Е.Б., Крамаков С.А., Храпова Н.Г. Роль токоферола в перекисном окислении липидов биомембран // Биолог. мембраны. – 1998. – № 2. – С. 137-167.
4. Губский Ю.И. Регуляция перекисного окисления липидов в биологических мембранах // Биохимия животных и человека. – 1978. – 2. – С. 72-83.
5. Климов А.Н., Никульева Н.Г. Липиды, липопротеиды и атеросклероз. – С.Пб., 1995. – 303 с.
6. Титов В.Н. Патологические основы лабораторной диагностики заболеваний печени // Клич. лаб. диагностика. – 1996. – № 1. – С. 3-9.
7. Ходаковская С.П., Брюзгина Т.С., Рева С.Н. Газохроматографический анализ высших жирных кислот липидов желчи // Клич. лаб. диагностика. – 1998. – № 6. – С. 17-18.

ОЦЕНКА ЛИПИДНОГО КОМПЛЕКСА СЫВОРОТКИ КРОВИ И ЖЕЛЧИ ПРИ ТОКСИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЯХ ПЕЧЕНИ

Н.В. Великая, В.И. Циприян, Т.С. Брюзгина
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА

Резюме

В статье приводятся результаты газохроматографического анализа жирнокислотного состава липидов и уровня свободного холестерина в сыворотке крови и желчи больных с токсическими поражениями печени. Полученные данные свидетельствуют о том, что повышение уровня полиненасыщенных жирных кислот в крови может служить прогностическим критерием изменений этого показателя в желчи.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хронический холецистит, гастродуоденит, липиды, жирные кислоты, холестерин, сыворотка крови, желчь.

ESTIMATION OF BLOOD SERUM AND BILE LIPID COMPLEX AT TOXIC HEPATIC INJURIES

N.V. Velikaya, V.I. Tsypryan, T.S. Briuzgina
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLETС

Summary

The paper presents some results of gas chromatography analysis regarding blood serum and bile lipid fatty-acid contents and free cholesterol level in the patients suffering from toxic hepatic injuries. The data obtained evidence that polyunsaturated fatty-acids levels increase in the blood is capable to serve as a prognostic criterion of this index change in the bile.

KEY WORDS: chronic cholecystitis, gastroduodenitis, lipids, fatty-acids, blood serum, cholesterol bile.

Отримано 05.02.2004 р.

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

ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ 2-(4-КАРБОМОІЛФЕНІЛІМІНО)-2Н-ХРОМЕН-3-КАРБОКСАМІДІВ

С.В. Русанова, Л.В. Яковлева, О.М. Шаповал, С.М. Коваленко
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ, ХАРКІВ

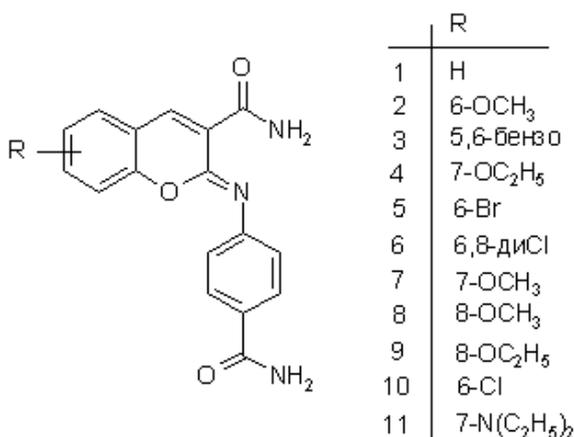
Здійснено синтез 11-ти нових похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів, проведено аналіз їх фізико-хімічних властивостей, вивчено біологічну активність. Структуру одержаних сполук підтверджено результатами спектральних досліджень (ІЧ-, ПМР-спектроскопії).

Встановлено, що синтезовані речовини є нетоксичними та проявляють гепатотропну, аналгезивну й антиексудативну активність. Найбільш перспективним для подальших досліджень виявився (3z)-3-[4-(амінокарбоніл)феніл]іміно}-3Н-бензо[f]хромено-2-карбоксамід.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксаміди, фармакологічний скринінг, біологічно активні речовини.

ВСТУП. 2Н-хромен-2-іміни (2Н-1-бензопіран-2-іміни, 2-імінокумарини, 2-кумариніміни) відносять до важливого, у практичному відношенні, класу гетероциклічних сполук – кумаринів, які широко використовуються як лікарські субстанції, зооциди, біологічні маркери.

З метою пошуку нових біологічно активних речовин здійснено синтез похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів, які було представлено для проведення фармакологічного скринінгу:



МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Похідні 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів було синтезовано на кафедрі органічної хімії

© С.В. Русанова, Л.В. Яковлева – д.фарм.н., проф., О.М. Шаповал – к.біол.н., С.М. Коваленко – д.хім.н., проф., 2004.

Національного фармацевтичного університету України шляхом взаємодії відповідних 2-іміно-2Н-хромен-3-карбоксамідів з 4-амінобензамідом у середовищі льодяної оцтової кислоти [2, 3]. Будову синтезованих сполук доведено методами ІЧ- та ПМР-спектроскопії.

Для скринінгу фармакологічних досліджень вивчали гостру токсичність, гепатотропну, аналгетичну та протизапальну дії.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. 1. Вивчення гострої токсичності похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів

З метою відтворення клініки гострого отруєння та для виявлення середньосмертельних доз (ЛД₅₀) гостру токсичність 11-ти похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів вивчали з використанням експрес-методу [7] та методу найменших квадратів [8] на білих мишах масою 18-20 г при одноразовому внутрішньошлунковому (пероральному) введенні. Результати проведених досліджень показали, що під впливом 11-ти речовин всі тварини залишилися живими, ознак інтоксикації в них не спостерігалось (миші були жвавими та охайними) навіть при введенні максимальної дози (15000 мг/кг).

Згідно із загальноприйнятою класифікацією К.К. Сидорова [9], похідні 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів належать до класу відносно нешкідливих речовин

(ЛД₅₀ > 15000 мг/кг), тому що їх ЛД₅₀ при пероральному введенні значно перевищують 15000 мг/кг.

2. Вивчення гепатотропної дії похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів

Враховуючи хімічну структуру похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів, було доцільним вивчити їх вплив на стан печінки та процеси ПОЛ у органі при гострому токсичному гепатиті, викликаному тетрахлоретаном.

В експерименті використовували білих мишей масою 25-30 г. Після попереднього 24-годинного голодування без обмеження вживання води дослідним тваринам у лікувально-профілактичному режимі (до та після введення гепатотоксину) вводили перорально вищевказані похідні 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів у дозі 1 мг/кг, контрольним – еквівалентну кількість води. 50 % масляний розчин тетрахлоретану вводили дослідним та контрольним мишам перорально з розрахунку 0,1 мл на 10 г маси тіла. На 3-ю добу вираховували відсоток тварин, які вижили, виводили їх з досліду за допомогою дислокації шийних хребців, забирали печінку та визначали її масу, що дозволило розрахувати ваговий коефіцієнт печінки (ВКП). Останній характеризує загальнотрофічний та функціональний стан органа. Інтенсивність процесів ПОЛ та стан антиоксидної системи печінки оцінювали за вмістом малонового діальдегіду (МДА) [10] та відновленого глутатіону (G-SH) у гомогенаті печінки дослідних груп тварин порівняно з групами інтактного контролю та контрольної

патології. Результати дослідження наведено у таблиці 1.

3 групи похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів сполуки 1, 8 виявляють гепатотоксичні властивості. Сполуки 2, 4, 5, 6, 7, 9, 10 також мають гепатотоксичні властивості. Також ці сполуки не нормалізують процеси ПОЛ та АОС організму тварин, тому що рівень G-SH та МДА у групах тварин, які одержували речовини 2, 4, 5, 9, 11, відповідає такому у групі контрольної патології. Детоксикуючі та гепатопротекторні властивості, на наш погляд, виявляють речовини 3 та 11. Під впливом сполуки 3 100 % мишей у групі вижили, знизився ВКП та відновилися до рівня інтактного контролю показники G-SH та МДА у гомогенаті печінки. Речовина 11 сприяла збільшенню до 80 % кількості тварин, які вижили, зниженню вмісту МДА та підвищенню вмісту G-SH до рівня таких показників у групі інтактного контролю.

Таким чином, нами встановлено, що гепатопротекторною активністю володіють речовини 3 та 11. Вони сприяють інгібуванню процесів ПОЛ, про що свідчить зниження рівня МДА, та відновленню функціонального стану антиоксидної системи організму тварин, на що вказує підвищення рівня G-SH у гомогенаті печінки.

3. Вивчення аналгетичної активності похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів

Вплив сполук на периферичну ноцицептивну систему вивчали на моделі оцтовокислих корчів у щурів [6]. У експерименті використовували статевозрілих щурів обох статей масою 180-200 г по 5 тварин у групі. Досліджували

Таблиця 1 – Вплив похідних на перебіг токсичного гепатиту в мишей, викликаного тетрахлорметаном

Умови досліду	Доза, мг/кг	Кількість тварин у групі	% мишей, які вижили	Ваговий коефіцієнт печінки	G-SH, мг%	МДА, мкмоль/г
Інтактний контроль	—	7	100	6,69±0,22	101,59±3,97	46,58±7,84
Контрольна патологія	—	7	62,5	8,12±0,82*	64,27±823,0*	83,59±13,02*
сполука 1	1,0	7	0	—	—	—
сполука 2	1,0	7	51,74	7,58±0,28*	67,28±16,28*	86,22±8,82
сполука 3	1,0	7	100	7,58±0,28*	83,31±18,40	58,46±15,79
сполука 4	1,0	7	71	8,02±0,47	104,87±15,99	94,61±16,10
сполука 5	1,0	7	50	8,45±0,71	110,13±11,18	79,92±20,23
сполука 6	1,0	7	83,3	7,43±0,64	82,27±14,18	92,82±13,74
сполука 7	1,0	7	83,3	7,89±0,52	95,73±16,96	78,72±9,33
сполука 8	1,0	7	0	—	—	—
сполука 9	1,0	7	66,7	8,05±0,49	70,84±16,14	55,13±20,07
сполука 10	1,0	7	60	7,71±0,68	106,72±20,29	79,49±11,11
сполука 11	1,0	7	80	6,35±0,53	83,97±12,86	39,10±8,97

Примітка. * – відхилення показника достовірно відносно групи інтактного контролю (p≤0,05);

** – відхилення показника достовірно відносно групи контрольної патології (p≤0,05).

речовини та препарат порівняння вольтарен вводили перорально у дозах, які було обрано згідно з Методичними рекомендаціями ДФЦ МОЗУ [6], з метою визначення ED_{50} на цій моделі. Величини ED_{50} розраховували із застосуванням методу найменших квадратів [4, 11].

Аналгетичну активність досліджуваних сполук оцінювали за їх здатністю зменшувати кількість корчів у дослідній групі щурів порівняно з контрольною і виражали у відсотках.

Результати експерименту наведено у таблиці 2.

Порівняльний аналіз аналгетичного ефекту в ряді похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів та препарату порівняння показав, що найбільшу ефективність з них має речовина 3 – (3z)-3{[4-(амінокар-

боніл)феніл] іміно}-3Н-бензо[f]хромено-2-карбоксамід, її ED_{50} дорівнює 0,58 мг/кг та переважає ED_{50} інших сполук у 1,2-4,4 раза, препарат порівняння вольтарен (5 мг/кг) – у 8,6 раза. Сполуки 1, 2, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11 за величиною ED_{50} мають перевагу над вольтареном у 2-7,6 раза.

Відомо, що введення оцтової кислоти викликає хімічне больове подразнення [4, 11] та сприяє загальній активації ноцицептивної системи і визволенню медіаторів болю брадикініну, гістаміну, серотоніну і простагландинів. Враховуючи це та результати наших досліджень, можна припустити, що майже усі похідні 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів пригнічують синтез та виділення вищеназаних медіаторів болю, які є і медіаторами запалення.

Таблиця 2 – Вивчення аналгетичної активності похідних на моделі оцтовокислих корчів у щурів та антиексудативної дії похідних АСК на моделі карагенового набряку стопи у щурів

№ за/п	Сполука	Аналгетична активність			Антиексудативна дія	
		Доза, мг/кг	Аналгетична активність, %	ED_{50} , мг/кг	Доза, мг/кг	Антиексудативна дія, % (середня за 5 год)
1	1		80,66±7,51	0,65	0,65	16,44±20,59
		5,0	43,08±17,82			
		10,0	28,60±14,32			
2	2	1,0	66,30±6,67	1,45	—	—
		5,0	54,92±2,13			
		10,0	48,83±0,83			
3	3	1,0	85,66±3,94	0,58	0,58	45,35±6,35
		5,0	44,02±7,33			
		10,0	24,34±13,85			
4	4	1,0	53,49±14,03	1,25	1,25	26,87±12,11
		5,0	37,99±23,26			
		10,0	85,26±6,64			
5	5	1,0	35,07±7,98	—	—	—
		5,0	48,06±1,97			
		10,0	-70,52±22,79			
6	6	1,0	22,51±4,89	1,73	1,73	4,17±10,99
		5,0	38,96±12,09			
		10,0	86,02±3,15			
7	7	1,0	25,94±6,78	1,35	1,35	11,74±15,45
		5,0	74,82±12,05			
		10,0	52,65±3,93			
8	8	1,0	33,59±6,45	1,15	1,15	-20,88±14,79
		5,0	72,52±3,89			
		10,0	51,90±5,05			
9	9	1,0	83,96±1,44	0,75	0,75	-13,69±19,18
		5,0	12,21±4,40			
		10,0	32,24±10,94			
10	10	1,0	15,07±6,85	2,55	2,55	-25,32±19,24
		5,0	64,88±6,98			
		10,0	69,46±2,71			
11	11	1,0	50,38±3,62	1,30	1,30	28,13±10,07
		5,0	40,46±12,58			
		10,0	82,44±2,39			
12	Вольтарен	1,0	14,10±2,46	5,00 (3,00÷8,00)	8,00	58,00±5,33
		5,0	42,20±3,21			
		10,0	70,40±8,06			

4. Вивчення антиексудативної дії 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів

Антиексудативні властивості найбільш ефективних похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів 1, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11 та препарату порівняння вивчали на моделі карагенінового набряку стопи у білих щурів масою 180-200 г [5]. Про розвиток набряку судили за збільшенням об'єму стопи, який вимірювали в динаміці через 1, 2, 3, 4 і 5 год за допомогою механічного онкометра за А.С. Захаревським [1]. Антиексудативну активність речовин виражали у відсотках і визначали за здатністю їх зменшувати набряки у дослідних тварин порівняно з контрольними.

Результати проведеного дослідження (табл. 2) свідчать про наявність у деяких похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів різної за ступенем вираження антиексудативної дії. Виразу антиексудативну дію, яка все ж таки поступається такій препарату порівняння вольтарену (в дозі 8 мг/кг – 58 %), виявив (3z)-3{[4-(амінокарбоніл)феніл]іміно}-3Н-бензо[f]хромено-2-карбоксамід (3) у дозі 0,58 мг/кг (ED_{50} за анал-

гетичною активністю) – 45,35 %. Похідним 1, 6, 7, 8, 9, 10 у дозах ED_{50} , які визначено при вивченні аналгетичної дії, властива проексудативна активність, про що свідчить значне (до 25 %) збільшення набряку стопи порівняно з контрольними тваринами. Також одержані дані дозволяють зробити припущення, що ці речовини не впливають на периферичний компонент ноцицептивної системи, а механізм їх аналгетичної дії опосередковується впливом на центральну ноцицептивну систему.

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що з ряду похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів за антиексудативною дією виділяється речовина 3 – (3z)-3{[4-(амінокарбоніл)феніл]іміно}-3Н-бензо[f]хромено-2-карбоксамід.

ВИСНОВОК. За результатами проведеного фармакологічного скринінгу 11-ти похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів встановлено, що перспективною для подальшого вивчення є сполука 3 – (3z)-3{[4-(амінокарбоніл)феніл]іміно}-3Н-бензо[f]хромено-2-карбоксамід.

ЛІТЕРАТУРА

1. Захаревский А.С. Влияние некоторых производных индола на нервную систему: Дис. ... канд. мед. наук. – Минск, 1962. – С. 78-80.

2. Зубков В.А., Коваленко С.Н., Черных В.П., Ивков С.М. Новые производные кумарина: 2-(N-R-имино)-2Н-1-бензопираны // ХГС. – 1994. – № 6. – С. 760-766.

3. Коваленко С.М., Черних В.П., Карасьов О.О. та ін. Взаємодія 2-імінокумаринів з N-нуклеофільними реагентами // Фізіологічно активні речовини. – 2002. – № 1 (33). – С. 14-25.

4. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.

5. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ, предлагаемых в качестве нестероидных противовоспалительных средств. – К.: ФК МЗ України, 1994. – 40 с.

6. Мохорт М.А., Яковлева Л.В., Шаповал О.М. Пошук та експериментальне вивчення фармакологічних речовин, які пропонуються як ненаркотичні аналгетики // Методичні рекомендації. – К.: ДФЦ

МОЗ України, 2000. – 23 с.

7. Пастушенко Т.В., Маруший Л.Б., Жуков А.А. Экспресс-метод определения среднесмертельных доз химических веществ // Гигиена и санитария. – 1985. – № 6. – С. 46-49.

8. Прозоровский В.Б. Использование метода наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности // Фармакол. и токсикол. – 1962. – № 1. – С. 115-119.

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

10. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современ. методы в биохимии. – М., 1977. – С. 66-67.

11. Хаджай Я.И. О графическом способе определения эффективной дозы и её доверительных границ при учете реакций в градуированной форме // Фармакол. и токсикол. – 1968. – № 1. – С. 118-123.

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ 2-(4-КАРБОМОИЛФЕНИЛИМИНО)-2Н-ХРОМЕН-3-КАРБОКСАМИДОВ

С.В. Русанова, Л.В. Яковлева, О.Н. Шаповал, С.Н. Коваленко
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ

Резюме

Осуществлен синтез 11-ти новых производных 2-(4-карбомойлфенилимино)-2Н-хромен-3-карбоксамидов, проведен анализ их физико-химических свойств, изучена биологическая активность. Структура полученных соединений подтверждена результатами спектральных исследований (ИК-, ПМР-спектроскопии).

Установлено, что синтезированные вещества являются нетоксичными, проявляют гепатотропную, анальгезирующую и антиэкссудативную активность. Наиболее перспективным для дальнейших исследований оказался (3z)-3{[4-(аминокарбонил)фенил]имино}-3Н-бензо[f]хромено-2-карбоксамид.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: 2-(4-карбомойлфенилимино)-2Н-хромен-3-карбоксамиды, фармакологический скрининг, биологически активные вещества.

BIOLOGICAL ACTIVITY OF DERIVATIVES OF 2-(4-CARBOMOYLPHENYLIMINO)- 2H-CHROMENE-3-CARBOXAMIDES

S.V. Rusanova, L.V. Yakovleva, O.M. Shapoval, S.M. Kovalenko
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY UKRAINE, KHARKIV

Summary

The synthesis of 11 new derivatives of 2-(4-carbomoylphenylimino)-2H-chromene-3-carboxamides is carried out, the analysis of their physical and their chemical properties is conducted, and biological activity is studied. The structure of the synthesized substances is confirmed by data of spectral researches (IR-, PMR-spectroscopy).

It is set, that the synthesized compounds are un toxic, show hepatotropic, analgetic activity and have antiexudative effect. The most perspective for further researches is the substance (3z)-3{[4-(aminocarbonyl)phenylimino]-3H-benzo[f]chromeno-2-carboxamide.

KEYWORDS: 2-(4-carbomoylphenylimino)-2H-chromene-3-carboxamides, pharmacological screening, biologically active substances.

Отримано 03.10.2003 р.

Адреса для листування: С.В. Русанова, вул. Блюхера, 21-Б, кв. 144, Харків, 61146, Україна.

ВІКОВІ ЗМІНИ МЕТАБОЛІЗМУ В СЕРЦЕВОМУ М'ЯЗІ ЩУРІВ У ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ АДРЕНАЛІНОВОЇ МІОКАРДІОДИСТРОФІЇ

О.Б. Сусла

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Вивчено динаміку показників прооксидно-антиоксидної системи та активності енергозабезпечувальних ферментів в серці та крові дорослих і старих щурів в різні періоди дії кардіотоксичної дози адреналіну. Встановлено, що при адреналіновій міокардіодистрофії відбувається активація вільнорадикального окиснення ліпідів, змінюється потужність ферментативної та неферментативної ланок системи антиоксидного захисту та пригнічується активність мітохондріальних ферментів в серцевому м'язі тварин, причому більше у старих і в перші доби експерименту. Зроблено висновок про доцільність застосування засобів, що проявляють нормалізуючий вплив на рівень ліпідної пероксидації, антиоксидний стан та процеси енергозабезпечення в кардіоміоцитах при пошкодженнях серця адренергічної природи.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: адреналінова міокардіодистрофія, серце, метаболізм, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидна система, дорослі й старі щури.

ВСТУП. Патологія серцево-судинної системи займає провідне місце в світі за розповсюдженістю, а також щодо інвалідації та смертності населення. Частою причиною загинували таких хворих є розвиток некротичного процесу в міокарді внаслідок значних порушень метаболізму адренергічної природи. Відомо, що в реалізації механізмів адренергічного ушкодження серця чільне місце відводиться активації вільнорадикального окиснення ліпідів, зміні потужності системи антиоксидного захисту (АОЗ) [19, 23] та порушенню активності ферментів енергозабезпечення в кардіоміоцитах [25]. Дослідження вказаних процесів в серцевому м'язі проводили в перші години і доби за умов сильного адренергічного впливу, проте дослідники мало уваги приділяють вивченню метаболізму в міокарді у віддалені терміни розвитку даної патології. На сьогодні недостатньо з'ясовано роль вікової реактивності в динаміці розвитку адреналінової міокардіодистрофії (АМД), хоча відомо про особливості перебігу вільнорадикального та енергозабезпечувального окиснення в серці в старості [24, 27]. А існуючі дані літератури щодо порушень прооксидно-антиоксидного гомеостазу в міокарді за розвитку адренергічного пошко-

дження нерідко є суперечливими [21, 22, 26, 28]. Тому метою даної роботи було з'ясування характеру змін показників перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), антиоксидної системи (АОС) та ферментів енергозабезпечення в серцевому м'язі дорослих і старих щурів в різні періоди розвитку АМД.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проведено на дорослих (8-10 міс.) та старих (18-24 міс.) білих нелінійних щурах-самцях, яких утримували в звичайних умовах та на стандартному раціоні віварію. АМД викликали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення адреналіну гідрохлориду в дозі 0,5 мг·кг⁻¹ [12]. Евтаназію експериментальних тварин проводили в умовах тіопентал-натрієвого знеболювання через 1, 3, 7 та 14 діб після ін'єкції. Досліджували сироватку і плазму крові, цільну кров та гомогенати серця. Інтенсивність ПОЛ оцінювали за вмістом ТБК-активних продуктів (ТБК) [1] та гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) [3], функціональний стан ферментативної ланки системи АОЗ – за активністю супероксиддисмутази (СОД) [18], каталази (КТ) [9] та церулоплазміну (ЦП) [8], неферментативної – за рівнем SH-груп [20]. Активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) визначали за [6], цито-

© О.Б. Сусла, 2004.

хромоксидази (ЦХО) – за [11]. Кардіотоксичний вплив адреналіну оцінювали за функціональним станом міокарда (показники ЕКГ) та ступенем цитолізу кардіоміоцитів (рівень маркерних ферментів аспартатамінотрансферази (АСТ) та аланінамінотрансферази (АЛТ)). ЕКГ реєстрували на електрокардіографі ЕК1Т-04 в II-стандартному відведенні з калібруванням 1 мВ=10 мм. Рівень АСТ і АЛТ в сироватці крові визначали за методом Райтмана і Френкеля. Одержаний цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Порівняльний аналіз вмісту продуктів ліпопероксидації та показників АОС у інтактних щурів обох вікових груп виявив ось що. Вміст ТБК у міокарді старих тварин, порівняно з дорослими, був більшим на 34,5 % ($p < 0,001$), ГПЛ – на 12,8 % ($p < 0,05$); водночас активність СОД в серці даної групи щурів була нижчою на 16,2 % ($p < 0,001$), рівень SH-груп – на 15,4 % ($P < 0,05$). Активність КТ в міокарді досліджуваних груп тварин достовірно не відрізнялася ($p > 0,05$). Рівень ЦП в плазмі крові дорослих щурів перевищував таку ж величину у старих на 6,3 % ($p > 0,05$), а вміст АЛТ – на 16,5 % ($p < 0,05$). Активність СДГ і ЦХО в гомогенатах серця старих щурів була суттєво нижчою аналогічних показників молодшої вікової групи – в 1,29 ($p < 0,001$) та 1,16 ($p < 0,001$) рази відповідно. Таким чином, за нормальних умов у старих тварин вища активність ПОЛ, нижча потужність АОС, ніж у дорослих. Вказані процеси в останніх проходили на фоні пригнічення активності мітохондріальних ферментів в кардіоміоцитах та цитолітичних процесів (табл. 1, 2).

В умовах розвитку АМД вільнорадикальне та енергозабезпечувальне окиснення в міокарді обох груп тварин мало хвилеподібний характер: 1-3 доби – висока активність ПОЛ, низькі потужність системи АОЗ та активність ферментів тканинного дихання; 7-14 доби – зниження рівня ліпопероксидації, зростання активності АОС та енергозабезпечення в кардіоміоцитах. Прояви порушень були більшими у старих щурів. Характерною особливістю вказаних процесів у старих експериментальних тварин за розвитку адренергічного пошкодження є неповна нормалізація показників прооксидно-антиоксидного гомеостазу та активності мітохондріальних ферментів в серці до кінця експерименту. Слід вказати, що зміни активності КТ та рівня SH-груп у крові щурів мали фазний характер (достовірно зростання вказаних показників в перші доби експери-

менту з подальшим їх зменшенням нижче норми). Вміст ЦП у всі терміни спостереження перевищував рівень контрольної групи, причому більшою мірою – у тварин молодшого віку. Інтенсивність цитолітичних процесів була вищою у старих щурів, ніж у дорослих, і зберігалася до 14-ї доби експерименту (АСТ, $p < 0,05$) (табл. 1).

Зростання рівня ГПЛ та ТБК в сироватці крові та серці досліджуваних груп тварин вказує на активацію ПОЛ та ушкодження мембран кардіоміоцитів. Встановлено, що на всіх етапах дослідження мало місце переважання кінцевих продуктів ліпопероксидації над проміжними, що узгоджується з літературними даними [13].

Гальмування активності СОД в серцевому м'язі, яка каталізує процес дисмутації супероксидних радикалів, очевидно, є наслідком незворотного відновлення міді в активному центрі ферменту або ж окиснення в ньому деяких функціональних груп, зокрема тіолових. Крім цього, інгібування ферменту може бути результатом взаємодії активного центру СОД з гідроперекисами ненасичених жирних кислот, що є посередниками дієнових кон'югат, підвищення рівня яких у тканині міокарда ми спостерігали при активації вільнорадикальних процесів [15]. Зростання активності КТ у сироватці крові на початкових етапах розвитку АМД, можливо, є результатом мобілізації компенсаторно-захисних сил організму у відповідь на інтенсифікацію ПОЛ. Однак більш вірогідно, що цей феномен є наслідком лабільувальної і деструктивної дій вільних радикалів на мембрани кардіоміоцитів [10]. На користь даного твердження свідчить той факт, що в серці нами зареєстровано значне зниження активності КТ на всіх стадіях патологічного процесу. За дії кардіотоксичної дози адреналіну достовірно зростав у плазмі крові вміст ЦП. Останнє, мабуть, є наслідком адаптивної активації синтезу ЦП, спрямованої на збільшення загального фонду антиоксидантів. Можливо, за умов адренергічного пошкодження порушується катаболізм ЦП, що пов'язано із зниженням активності ферменту нейрамінідази. Хоча, на думку інших дослідників [7], зростання активності цього мідевісного антиоксиданта, як білка гострої фази вказує на напруженість компенсаторної реакції. Деякі автори вважають, що збільшення концентрації ЦП віддзеркалює феномен стресу, зумовленого серцевою недостатністю і супровідною циркуляторною гіпоксією [2]. Процес некрозоутворення в серцевому м'язі супроводжувався зростанням вмісту SH-груп у крові піддослідних груп тварин на 1-шу добу експерименту, що може бути про-

явом компенсаторної реакції організму, спрямованої на знешкодження пероксирадикалів, які посилено утворюються під впливом адреналіну. В подальшому відбувалося зменшення рівня останніх у крові щурів нижче контрольних значень. Водночас у гомогенатах міокарда спостерігалось достовірне та стійке зниження вмісту SH-груп на всіх етапах дослідження, що свідчить про пошкодження механізму тіолового ланцюга білкової фракції [4].

Накопичення ТБК-активних продуктів ПОЛ, які володіють мембранотоксичними властивостями, може зумовлювати ушкодження плазматичних і мітохондріальних мембран міокардіальних клітин, що, у свою чергу, впливає на стан окисно-відновних процесів у серцевому м'язі з розвитком гіпоксії [17]. На вірогідність

цього вказує статистично достовірне зростання активності маркерних ферментів цитолізу в сироватці крові щурів протягом експерименту, більше за рахунок фракції АСТ, та в перші доби розвитку АМД (табл. 1). Відбувається перебудова окиснювального метаболізму серця з аеробного шляху на анаеробний в умовах тканинної гіпоксії, спричиненої сильним адренергічним впливом [16]. Отримані нами результати щодо функціонування енергозабезпечувальних ферментів у серці дорослих і старих тварин за розвитку адренергічного пошкодження свідчать про суттєве пригнічення активності СДГ та ЦХО, що вказує на порушення транспорту електронів по дихальному ланцюзі і процесу дегідрування субстратів тканинного дихання.

Таблиця 1 – Динаміка показників вільнорадикального окиснення ліпідів, антиоксидного захисту та активності цитолітичних ферментів у крові тварин після введення кардіотоксичної дози адреналіну ($M \pm m$)

Показник	Дорослі					Старі				
	інтактні щури (n=7)	1 доба (n=7)	3 доби (n=7)	7 діб (n=6)	14 діб (n=6)	інтактні щури (n=7)	1 доба (n=7)	3 доби (n=7)	7 діб (n=6)	14 діб (n=6)
ТБК, мкмоль·л ⁻¹	6,08±0,09	10,24±0,40	8,49±0,32	7,59±0,33	6,24±0,37	7,22±0,23*	11,70±0,46*	11,31±0,45*	8,66±0,34*	7,42±0,33*
p ₁		<0,001	<0,001	<0,01	-		<0,001	<0,001	<0,01	
p ₂		-	<0,01	-	<0,05		-	-	<0,001	<0,05
ГПЛ, x10 ³ ум. од.·л ⁻¹	1,23±0,04	1,76±0,06	1,58±0,06	1,45±0,03	1,24±0,05	1,39±0,04*	1,83±0,04	1,77±0,06*	1,62±0,06*	1,47±0,04*
p ₁		<0,001	<0,001	<0,01	-		<0,001	<0,001	<0,01	-
p ₂		-	-	-	<0,01		-	-	-	-
СОД, x10 ³ ум. од.·л ⁻¹	6,29±0,14	3,72±0,16	4,37±0,20	6,04±0,08	6,23±0,24	5,59±0,15*	3,63±0,16	4,43±0,23	4,54±0,19*	5,37±0,18*
p ₁		<0,001	<0,001	-	-		<0,001	<0,01	<0,01	-
p ₂			<0,05	<0,001	-		-	<0,05	-	<0,01
КТ, мкат·л ⁻¹	0,215±0,005	0,277±0,009	0,254±0,010	0,171±0,004	0,195±0,005	0,207±0,004	0,255±0,011	0,211±0,005*	0,165±0,003	0,186±0,005
p ₁		<0,001	<0,01	<0,001	<0,05		<0,01	-	<0,001	<0,01
p ₂		-	-	<0,001	<0,05		-	<0,01	<0,001	<0,01
ЦП, мг·л ⁻¹	229,3±7,0	335,4±13,4	317,5±13,2	272,2±7,4	247,5±11,8	214,9±9,8	272,0±12,5*	264,5±12,5*	254,8±9,1	240,8±9,5
p ₁		<0,001	<0,001	<0,01	-		<0,01	<0,01	<0,05	-
p ₂		-	-	<0,05	-		-	-	-	-
SH-групи, ммоль·л ⁻¹	2,21±0,07	3,12±0,10	1,61±0,06	1,83±0,08	1,94±0,07	2,07±0,07	2,46±0,09*	1,34±0,06*	1,62±0,07	1,77±0,07
p ₁		<0,001	<0,001	<0,01	<0,05		<0,01	<0,001	<0,00	<0,05
p ₂		-	<0,001	-	-		-	<0,001	1<0,05	<0,05
АСТ, мкат·л ⁻¹	0,140±0,005	0,269±0,009	0,194±0,005	0,164±0,005	0,140±0,009	0,143±0,004	0,367±0,013*	0,254±0,010*	0,170±0,006	0,163±0,007
p ₁		<0,001	<0,001	<0,01	-		<0,001	<0,001	<0,01	<0,05
p ₂		-	<0,001	<0,01	<0,05		-	<0,001	<0,001	-
АЛТ, мкат·л ⁻¹	0,103±0,005	0,136±0,009	0,128±0,002	0,105±0,005	0,100±0,006	0,086±0,004*	0,134±0,008	0,133±0,008	0,108±0,005	0,096±0,005*
p ₁		<0,01	<0,001	-	-		<0,001	<0,001	<0,01	-
p ₂		-	-	<0,01	-		-	-	<0,05	-

Примітка. * – зміни достовірні за показниками дорослих і старих тварин в термін спостереження; p₁ – зміни достовірні відносно інтактних щурів; p₂ – зміни достовірні відносно попереднього терміну спостереження.

Таблиця 2 – Динаміка показників прооксидно-антиоксидної системи та активності ферментів енергозабезпечення в серці тварин після введення кардіотоксичної дози адреналіну ($M \pm m$)

Показник	Дорослі					Старі				
	інтактні щури (n=7)	1 доба (n=7)	3 доби (n=7)	7 діб (n=6)	14 діб (n=6)	інтактні щури (n=7)	1 доба (n=7)	3 доби (n=7)	7 діб (n=6)	14 діб (n=6)
ТБК, мкмоль·кг ⁻¹	19,23±0,30	50,87±0,94	29,15±0,77	21,97±0,61	20,38±0,51	25,86±0,69*	54,33±1,16*	48,55±0,59*	34,51±0,52*	27,86±0,42*
p ₁		<0,001	<0,001	<0,01	-		<0,001	<0,001	<0,001	<0,05
p ₂		-	<0,001	<0,01	-		-	<0,001	<0,001	<0,001
ГПЛ, x10 ³ ум. од.·кг ⁻¹	3,66±0,12	5,98±0,21	5,25±0,19	4,41±0,22	3,74±0,15	4,13±0,12*	7,11±0,27*	6,70±0,29*	5,01±0,23	4,21±0,14*
p ₁		<0,001	<0,001	<0,05	-		<0,001	<0,001	<0,01	-
p ₂		-	<0,05	<0,05	<0,05		-	-	<0,001	<0,05
СОД, x10 ⁴ ум. од.·кг ⁻¹	48,15±1,45	31,76±1,72	34,69±1,20	45,05±1,34	49,04±0,91	40,37±1,05*	27,46±1,42	28,19±0,77*	33,83±1,14*	38,98±0,79*
p ₁		<0,001	<0,001	-	-		<0,001	<0,001	<0,01	-
p ₂		-	-	<0,001	<0,05		-	-	<0,01	<0,01
КТ, кат·кг ⁻¹	3,31±0,08	2,53±0,12	2,70±0,08	2,94±0,10	3,23±0,08	3,36±0,11	2,42±0,11	2,35±0,13*	2,68±0,08	2,92±0,11*
p ₁		<0,001	<0,001	<0,05	-		<0,001	<0,001	<0,001	<0,05
p ₂		-	-	-	<0,05		-	-	-	-
SH-групи, моль·кг ⁻¹	2,14±0,07	1,85±0,07	1,53±0,06	1,73±0,09	2,06±0,08	1,81±0,07*	1,41±0,09*	1,28±0,07*	1,45±0,09	1,49±0,08*
p ₁		<0,05	<0,001	<0,01	-		<0,01	<0,001	<0,01	<0,05
p ₂		-	<0,01	-	<0,05		-	-	-	-
СДГ, ммоль·кг ⁻¹ ·хв ⁻¹	6,21±0,14	4,21±0,14	4,79±0,14	5,29±0,18	6,13±0,14	4,82±0,09*	2,95±0,14*	3,09±0,10*	4,18±0,13*	4,25±0,15*
p ₁		<0,001	<0,001	<0,01	-		<0,001	<0,001	<0,01	<0,05
p ₂		-	<0,05	-	<0,01		-	-	<0,001	-
ЦХО, ммоль·кг ⁻¹ ·хв ⁻¹	11,16±0,17	7,46±0,22	8,20±0,17	10,32±0,18	10,86±0,09	9,59±0,14*	5,94±0,13*	5,88±0,14	7,83±0,11*	9,14±0,17*
p ₁		<0,001	<0,001	<0,01	-		<0,001	<0,001	<0,001	-
p ₂		-	<0,05	<0,001	-		-	-	<0,001	<0,001

Примітка. * – зміни достовірні за показниками дорослих і старих тварин у термін спостереження; p₁ – зміни достовірні відносно інтактних щурів; p₂ – зміни достовірні відносно попереднього терміну спостереження.

Слід вказати, що активність вказаних ферментів у міокарді щурів максимального пригнічення зазнавала в період інтенсифікації ПОЛ (табл. 2). Подібні результати наведено в [14].

Проведений аналіз електрокардіограм показав, що зміни досліджуваних показників у піддослідних груп тварин наростали на 1-3 доби експерименту. Разом із тим, у старих щурів ушкоджувальна дія адреналіну була сильнішою, на що вказували менший вольтаж зубця R, більш значні зміни амплітуди зубця T, тривалості інтервалу R-R, частоти серцевих скорочень (табл. 3). Отже, сильний адренергічний вплив викликав у старих тварин глибші зміни метаболізму та біоелектричної активності серцевого м'яза.

Зрив адаптаційно-компенсаторних процесів на метаболічному рівні не сприяє утилізації різних недоокиснених метаболітів та продуктів пероксидазних реакцій і тим самим виснажує

енергокомпенсаторні процеси, які є необхідними для активації різних синтезів, що забезпечує стабілізацію клітинних мембран та індукцію ферментів системи АОЗ [5].

Таким чином, активація процесів ліпопероксидації, зростання рівня трансаміназ, зміна потужності системи АОЗ, а також пригнічення активності енергозабезпечувального окиснення в кардіоміоцитах є суттєвими факторами патогенезу ушкодження серця за умов адренергічного впливу.

ВИСНОВКИ. 1. При адреналіновій міокардіодистрофії відбувається активація вільнорадикального окиснення ліпідів в серці та крові експериментальних тварин, змінюється активність ферментативної та неферментативної ланок системи АОЗ (знижуються активності СОД, КТ, рівень SH-груп у міокарді та підвищується вміст церулоплазміну з фазними

Таблиця 3 – Показники ЕКГ у піддослідних груп тварин у різні періоди дії кардіотоксичної дози адреналіну ($M \pm m$)

Вік	Показник	Інтактні шури (n=7)	Шури після введення кардіотоксичної дози адреналіну, через			
			1 добу (n=7)	3 доби (n=7)	7 діб (n=6)	14 діб (n=6)
8-10 міс.	Зубець R, мВ	0,467±0,035	0,407±0,030	0,431±0,037	0,440±0,039	0,458±0,034
	Зубець T, мВ	0,173±0,017	0,078±0,011**	0,217±0,013* ###	0,177±0,016	0,155±0,015
	Інтервал Q-T, с	0,073±0,002	0,074±0,002	0,077±0,003	0,074±0,003	0,074±0,003
	Інтервал R-R, с	0,131±0,003	0,129±0,003	0,127±0,004	0,130±0,004	0,131±0,004
	Q-T·R-R ⁻¹ ·100 (абсол. велич.)	55,21±1,01	57,89±1,15	60,25±0,87**	56,57±1,15	56,35±1,08
	ЧСС, хв ⁻¹	471,4±4,0	485,7±8,4	488,6±8,6	480,0±7,3	476,7±8,0
18-24 міс.	Зубець R, мВ	0,519±0,040	0,379±0,035*	0,413±0,016*	0,438±0,040	0,482±0,030
	Зубець T, мВ	0,179±0,017	0,062±0,006***	0,277±0,024***#	0,203±0,017#	0,208±0,024
	Інтервал Q-T, с	0,078±0,002	0,074±0,002	0,073±0,002	0,077±0,003	0,078±0,003
	Інтервал R-R, с	0,134±0,003	0,123±0,003*	0,126±0,003	0,129±0,004	0,133±0,004
	Q-T·R-R ⁻¹ ·100 (абсол. велич.)	57,98±0,67	59,85±0,63	58,32±0,72	59,54±0,75	58,65±0,96
	ЧСС, хв ⁻¹	468,6±7,4	502,9±6,8**	494,3±8,4*	486,7±9,9	473,3±6,7

Примітки:

1.* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ (достовірність відмінностей з інтактними шурами).

2. # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$ (достовірність відмінностей з даними попереднього терміну спостереження).

змінами активності КТ і рівня SH-груп у крові). Прояви кардіотоксичної дози адреналіну більш виражені в перші доби експерименту і більше у старих тварин.

2. За дії кардіотоксичної дози адреналіну значно пригнічується активність енергозабезпечувальних ферментів у кардіоміоцитах дорослих і старих шури. Найбільших змін вони зазнають в тварин старшої вікової групи в перші доби експерименту.

3. Зміни показників прооксидно-антиоксидної системи та активності мітохондріальних ферментів в серцевому м'язі тварин обох вікових груп обґрунтовують необхідність використання препаратів, які проявляють нормалізуючий вплив на рівень ліпідної пероксидації, антиоксидний стан та процеси енергозабезпечення в кардіоміоцитах при пошкодженні серця адренергічної природи, що й стане предметом наших подальших досліджень.

ЛІТЕРАТУРА

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

2. Волчегорский И.А., Шапошник И.И., Алексеев Е.Н., Харченкова Н.В. Содержание продуктов перекисного окисления липидов и церулоплазмينا в крови как показателя толерантности к физической нагрузке при гипертрофической кардиомиопатии // Клинич. лаб. диагн. – 2002. – № 2. – С. 11-13.

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

4. Дадали В.А., Баскович Г.А., Радченко В.Г. и др. Биологически активные добавки в лечении больных с сердечно-сосудистой патологией // Вестн. Санкт-Петерб. гос. акад. – 2002. – № 12. – С. 101-104.

5. Дутка Р.Є., Тимочко М.Ф., Базилевич А.Я., Файник О.Ф. Особливості процесів енергозабез-

печення міокарда у хворих на прогресуючу стенокардію напруження // Укр. кардіол. журн. – 1997. – № 6, вип. 2. – С. 19-22.

6. Ещенко Н.Д., Вольский Т.Г. Методы биохимических исследований. – Л.: Из-во Ленинград. ун-та, 1982. – С. 210-212.

7. Ковтунова М.Е., Паньков В.Н., Перевалова Н.Н. Церулоплазмин и среднемолекулярные пептиды как критерии течения острого миелобластного лейкоза // Клинич. лаб. диагн. – 2003. – № 5. – С. 52-54.

8. Колб В.Г., Камышников В.С. Клиническая биохимия. – Минск: Беларусь, 1986. – 312 с.

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

10. Кравчук Л.О. Стан антиоксидантної системи та процесів ліпопероксидації у тварин з токсичним ураженням солянокислим гідразинном // Вісн. наук. досліджень. – 2001. – № 2. – С. 89-90.

11. Кривченкова Р.С. Метод определения активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий // В кн.: Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 47-49.
12. Мисула І.Р. Особливості стресорного ушкодження серця в старості і способи його попередження: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.03.05 / Одес. держ. мед. ун-т. – О., 1996. – 38 с.
13. Полянська О.С. Активність процесів ліпопероксидації при нестабільній стенокардії та інфаркті міокарда // Буков. мед. вісн. – 2002. – 6, № 2. – С. 77-78.
14. Посохова К.А., Лебедева Т.А. Вплив попередника оксиду азоту L-аргініну на метаболічні процеси в ушкодженому адреналіном міокарді // Здобутки клініч. і експерим. медицини. – 2003. – № 1. – С. 148.
15. Реброва Т.Ю., Маслов Л.Н., Там С.В. Вклад системы антиокислительных ферментов в реализацию кардиопротекторного эффекта опиоидов при окислительном стрессе // Вопросы мед. химии. – 2001. – 47, № 3. – С. 338-345.
16. Сахарова Т.С., Яковлева Л.В., Горбань Є.М., Герасимова О.О. Експериментальне дослідження кардіотропності препаратів біофлавоноїдного ряду // Мед. хімія. – 2001. – 3, №2. – С. 13-15.
17. Хныченко Л.К., Бульон В.В., Сапронов Н.С. Изучение влияния нового производного таурина на некоторые показатели метаболизма при экспериментальном инфаркте миокарда // Эксперим. и клинич. фармакол. – 2001. – 64, № 2. – С. 38-40.
18. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах и метод определения ее в биологическом материале // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678-681.
19. Balta N., Dumitru I.F., Stoian G. et al. Influence of isoproterenol-induced cardiac hypertrophy on oxydative myocardial stress // Rom. J. Physiol. – 1995. – 32, № 1-4. – P. 149-154.
20. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – № 83. – P. 70-77.
21. Garbuzova V.Iu., Davydov D.D. The age-related characteristics of the effect of dimethylsulfoxide on myocardial catalase activity in immobilization stress // Exp. clin. pharmacol. – 1998. – 61, № 6. – P.62-64.
22. Ithayarasi A.P., Devi C.S. Effect of alpha-tocopherol on lipid peroxidation in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats // Indian J. Physiol. Pharmacol. – 1997. – 41, № 4. – P. 369-376.
23. Leaf D.A., Kleinman M.T., Hamilton M., Deitrick R.W. The exercise-induced oxidative stress paradox: the effect of physical exercise training // Am. J. Med. Sci. – 1999. – 317, № 5. – P. 295-300.
24. Miro O., Casademont J., Casals E. et al. Aging is associated with increased lipid peroxidation in human hearts, but not with mitochondrial respiratory chain enzyme defects // Cardiovasc. Res. – 2000. – 47, № 3. – P. 624-631.
25. Padma V.V., Devi C.S. Effect of fish oil on mitochondrial respiration in isoproterenol induced myocardial infarction in rats // Indian J. Exp. Biol. – 2002. – 40, № 3. – P. 268-272.
26. Pandey N.R., Konr G., Chandra M. et al. Enzymatic oxidant and antioxidant of human blood platelets in unstable angina and myocardial infarction // Int. J. Cardiol. – 2000. – 76, № 1. – P. 33-38.
27. Shinochara R., Mano T., Nayasaka A. et al. Lipid peroxidation levels in rat cardiac muscle are affected by age and thyroid status // J. Endocrinol. – 2000. – 164, № 1. – P. 97-102.
28. Talankina A., Yastrebov A. Changes of lipid peroxidation in patients of the various age groups after myocardial infarction // Clin. Gerontol. – 2002. – № 5. – P. 165.

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА В СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЕ КРЫС В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ АДРЕНАЛИНОВОЙ МИОКАРДИОДИСТРОФИИ

А.Б. Сусла

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Изучена динамика показателей проокислительно-антиоксидантной системы и активности энергообеспечивающих ферментов в сердце и крови взрослых и старых крыс в разные периоды действия кардиотоксической дозы адреналина. Установлено, что при адреналиновой миокардиодистрофии происходит активация свободнорадикального окисления липидов, изменяется мощность ферментативного и неферментативного звеньев системы антиоксидантной защиты и угнетается активность митохондриальных ферментов в сердечной мышце животных, причем более у старых и в первые сутки эксперимента. Сделано вывод о целесообразности применения препаратов, проявляющих нормализующее влияние

на уровень липидной пероксидации, антиоксидное состояние и процессы энергообеспечения в кардиомиоцитах при повреждениях сердца адренергической природы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: адреналиновая миокардиодистрофия, сердце, метаболизм, перекисное окисление липидов, антиоксидная система, взрослые и старые крысы.

AGE CHANGES IN METABOLISM OF HEART MUSCLE IN RATS VIEWED IN DYNAMICS OF EPINEPHRINE MYOCARDIAL DYSTROPHY DEVELOPMENT

O.B. Susla

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

There have been studied data of prooxidative and antioxidative system and activity of energy-providing enzymes in heart and blood of adult and old rats during different periods of the effect of cardiotoxic dose of epinephrine. It has been established that during epinephrine myocardial dystrophy there can be observed activation of free radical oxydation of lipids, changes in power of enzyme and non-enzyme parts of the system of antioxidative protection and diminishing of activity of mitochondria enzymes in the heart muscle of the animals, particularly, in the old ones and during the first days of the experiment. There has been made a conclusion about expediency of usage of drugs with normalizing influence on the level of lipid peroxidation, antioxidative condition and energetic processes in cardiomyocytes at heart damage of adrenergic nature.

KEY WORDS: epinephrine myocardial dystrophy, heart, metabolism, lipid peroxidation, antioxidative system, adult and old rats.

Отримано 28.11.2003 р.

Адреса для листування: О.Б. Сусла, вул. Корольова, 8, кв. 73, Тернопіль, 46023, Україна.

ПОШУК ЦИТОСТАТИКІВ З АНТИОКСИДНИМ МЕХАНІЗМОМ ДІЇ СЕРЕД ПОХІДНИХ 4-ГІДРАЗИНОХІАЗОЛІНУ

І.Ф. Беленічев, С.І. Коваленко, Н.О. Нестерова, О.В. Карпенко
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Похідні 4-гідразинохіазоліну, які мають антирадикальну, антиоксидну активність та здатні гальмувати окисну модифікацію білка, проявляють цитостатичну дію відносно трьох ліній ракових клітин (пухлини мозку, легень і молочної залози). Показано деякий взаємозв'язок між цитостатичною дією похідних 4-гідразинохіазоліну і здатністю інгібувати окисну модифікацію білка, що є експериментальним обґрунтуванням для подальшого пошуку нових протиракових засобів у цьому ряду.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: похідні 4-гідразинохіазоліну, антирадикальна та антиоксидна активність, окисна модифікація білка, рак мозку, легень і молочної залози, цитостатична дія.

ВСТУП. Онкологічні захворювання в країнах Європейського Союзу є другою після серцево-судинної патології причиною смерті. Згідно з оцінками експертів ВООЗ, рак, викликаний несприятливими чинниками навколишнього середовища і способом життя, складає 75-80 %, а зумовлений фактором харчування – 30-40 % [5, 7, 21].

Епідеміологічні дослідження показують, що приймання антиоксидантів (α -токоферолу, β -каротину, мелатоніну тощо) з профілактичною метою супроводжується зниженням частоти цього захворювання [7, 8, 12, 18]. Безперечно, дослідження, проведені протягом останніх 40 років, підтверджують, що вільнорадикальне окиснення (ВРО) є важливою ланкою в патогенезі утворення пухлин [2, 5, 7, 9, 11, 20]. У цих процесах беруть участь як активні форми кисню (АФК), вільні радикали жирних кислот, так і стабільні продукти окисної модифікації ліпідів, білків і нуклеїнових кислот.

Активні форми кисню (супероксид-, гідроксид-, пероксинітрит-радикал і гіпохлорит-іон) утворюються під впливом екзогенних (УФ-випромінювання, озон, окиси азоту, сполуки сірки, галогени, куріння) і ендогенних (дефіцит ендогенних антиоксидантів, зниження активності антиоксидного ферментного комплексу, викликаного старінням, апоптозом) факторів [5, 8, 17, 22, 23] та ініціюють оксидативний

© І.Ф. Беленічев, С.І. Коваленко, Н.О. Нестерова, О.В. Карпенко, 2004.

стрес на всіх клітинних рівнях [5, 16]. Надзвичайно чутливі до окисної атаки фосфоліпиди і клітинні органели, які містять поліненасичені жирні кислоти. Продукти їх окисної модифікації, такі, як малоновий діальдегід (МДА) і 4-гідроксинафтал, є надзвичайно цитотоксичними і діють на імунокомпетентні клітини [3, 7, 23].

АФК викликають окисну модифікацію білкових молекул, змінюючи мембранні канали, рецептори, інактивуючи ферменти [4]. Так, інактивація Ca^{2+} -АТФ-ази під дією АФК призводить до підвищення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} , що підсилює клітинну проліферацію, наслідком чого є помилкова регуляція клітини [2, 21].

АФК піддають модифікації нуклеїнові кислоти, спричиняючи появу мутацій. Так, місцем впливу гідроксилрадикала є гуанінові основи. Цей процес супроводжується утворенням 8-гідроксигуаніну і призводить до помилкового спарювання при клітинній реплікації [3, 7, 19].

Крім цього, АФК підсилюють активацію фактора транскрипції білка NF-Карра В, що індукує експресію генів прозапальних цитокінів (IL-1 β , IL-6, TNF- α), проапоптотичних білків (APO-1), HIV-вірусну реплікацію, а також активацію онкогенів [2, 6, 10, 13-15]. З цим фактором транскрипції пов'язаний новий принцип трансдукції сигналу при активації онкопатології, де АФК є вторинними месенджерами активації генів. Багато авторів припускає, що активація фактора транскрипції білка NF-Карра В і пов'я-

зана з цим окисна модифікація білка безпосередньо беруть участь у генезі пухлин на всіх стадіях [13, 15].

Метою даної роботи є пошук і конструювання високоефективних протиракових засобів з антиоксидним механізмом дії серед похідних хіназоліну.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі було досліджено 4 сполуки – похідні 4-ариліденгідразинохіназоліну (НН-1, НН-13, НН-16) і 4-ацилгідразинохіназоліну (НН-21), синтезовані на кафедрі фармацевтичної хімії ЗДМУ (зав. кафедрою професор І.А. Мазур). Антиоксидну (АОА) і антирадикальну (АРА) активність сполук у дослідях *in vitro* оцінювали на чотирьох моделях ініціювання ВРО (ферментативне і неферментативне ініціювання, інгібування супероксид- і пероксинітритрадикалів) [1].

Окисну модифікацію білка проводили в гомогенаті печінки щурів [4]. До 0,25 г гомогенату тканини додавали 7 мл 0,5 М фосфатного буфера (температура розчину – 5 °С) і центрифугували 30 хв при 11000 g. До 0,1 мл підготовленого гомогенату додавали 0,1 мл досліджуваної речовини (10^{-6} М), 0,1 мл 2,8 % заліза (II) сульфату, 0,1 мл 4 % перекису водню та інкубували 2 год. Потім додавали 1 мл 25 % трихлороцтової кислоти і центрифугували 30 хв

при 3000 об./хв. До 0,5 мл надосаду додавали 12,0 мл 0,9 % натрію хлориду, спектрофотометрували при довжині хвилі 254, 272 і 280 нм, розчин порівняння – 0,5 М фосфатний буфер.

До осаду, що залишився після центрифугування, додавали 1 мл 2,2 % 2,4-динітрофенілгідразину (приготовленого на 7 % розчині соляної кислоти) та інкубували 1 год при температурі 37 °С, центрифугували 10 хв при 3000 об./хв. Осад промивали 3 мл етилацетату, розчиняли у 3 мл 50 % розчину сечовини, додавали 1 краплю 7 % розчину соляної кислоти і розводили дистильованою водою в 12 разів. Підготовлений розчин спектрофотометрували при довжині хвилі 274, 363 нм, розчин порівняння – 0,5 М фосфатний буфер. За показником екстинкції визначали ступінь дефрагментації білка.

Цитостатичну активність досліджених сполук вивчали в Американському національному інституті раку на трьох лініях ракових клітин: Breast (рак мозку), Lung (рак легень), CNS (рак молочної залози).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Дослідження *in vitro* АОА похідних 4-гідразинохіназоліну (НН-1, НН-13, НН-16, НН-21) показало (табл. 1), що в умовах ферментативного ініціювання ВРО АОА була більш вираженою у похідних 4-ариліденгідразинохіназоліну (НН-1,

Таблиця 1 – АОА й АРА досліджуваних сполук у дослідях *in vitro*

Сполука	Ферментативне ініціювання**		Неферментативне ініціювання**		Інгібування супероксидрадикала**		Інгібування пероксинітритрадикала**	
	МДА, ммоль/мл	АОА, %	МДА, ммоль/мл	АОА, %	екстинкція	АОА, %	екстинкція	АРА, %
Інтакт	0,25±0,01	–	0,010±0,002	–	–	–	2,80±0,14	–
Контроль	1,37±0,02	–	0,27±0,01	–	0,22±0,01	–	1,20±0,09	–
НН-1	1,20±0,04*	12,4	0,18±0,02*	33,3	0,18±0,02*	18,0	1,21±0,04	0,8
НН-13	0,89±0,04*	35,0	0,16±0,04*	40,0	0,17±0,03*	22,7	2,60±0,02*	116,6
НН-16	1,30±0,02*	5,0	0,21±0,03*	22,2	0,18±0,02*	18,0	1,80±0,03*	50,0
НН-21	1,48±0,03*	0	0,26±0,03	3,0	0,21±0,01	5,0	1,00±0,09	0
Дибунол			3,68±0,05	25,2				
α-Токоферолу ацетат			4,42±0,12	10,16				
Контроль			4,92±0,14					
Метіонін	1,030±0,042	16,2						
Унітіол	1,000±0,066	18,6						
Контроль	1,23±0,04	–						
Сечовина					0,131±0,001	35,0		
Контроль					0,200±0,002			
N-АЦЦ							0,555±0,022	62,2
Контроль							1,2±0,0	–

Примітка. * – вірогідність розходжень стосовно контролю ($p < 0,05$); ** – досліджувані сполуки визначали в дозах: при ферментативному ініціюванні – 0,38 мкмоль/мл; при неферментативному ініціюванні – 1,5 мкмоль/мл; при інгібуванні супероксидрадикала – 0,25 мкмоль/мл; при інгібуванні оксиду азоту – 0,60 мкмоль/мл; дибунол, α-токоферолу ацетат, метіонін, унітіол, сечовину, N-АЦЦ додавали в дозах 3,0, 2,5, 0,76, 0,76, 0,15, 0,60 мкмоль/мл відповідно до моделей ініціювання ВРО.

НН-13, НН-16), а похідні 4-ацилгідразинохіназоліну (НН-21) на даній моделі активності не виявляли. Так, сполука НН-13 мала АОА, яка за силою дії переважала унітіол на 16,4 %. Необхідно відзначити, що в умовах неферментативного ініціювання ВРО спостерігалася аналогічна залежність (табл. 1).

При дослідженні АРА за інгібуванням утворення супероксид- і перокси-нітритрадикалів було встановлено, що сполуки НН-1, НН-13, НН-16 пригнічували утворення АФК, а сполука НН-13 за силою дії конкурувала або переважала еталони порівняння (сечовину, N-АЦЦ). Сполука НН-21 на даних моделях не виявляла активності.

При дослідженні АОА *in vitro* в умовах окисної модифікації білка було встановлено, що найбільшу активність проявляли похідні 4-ацилгідразинохіназоліну (НН-21), які здатні гальмувати пероксидацію білка, знижуючи при цьому як ступінь його дефрагментації, так і утворення карбонільних і карбоксильних продуктів (табл. 2). Так, внесення сполуки НН-21 в інкубаційне середовище зменшувало ступінь дефрагментації білка на 71,4, 14,8 і 28,5 % відповідно до довжин хвиль ($\lambda=254$; 272;

280 нм), що характеризує розрив С-С-зв'язків у структурі макромолекули. Похідні 4-ариліденгідразинохіназолінів такої дії не проявляли (табл. 2).

Крім цього, сполука НН-21 знижувала накопичення γ -глутамілсеміальдегіду і 2-аміноадипінсеміальдегіду ($\lambda=274$ нм) сумарно на 99,9 %, а також карбоксильних продуктів ($\lambda=363$ нм). Отже, вона є ефективним інгібітором пероксидації білка і не тільки зменшує утворення карбоксильних груп у структурі молекули білка, але і запобігає їх деструкції та руйнуванню.

З огляду на роль ВРО в генезі пухлин, нами було проведено комп'ютерне прогнозування біологічної активності за допомогою програми PASS C&T (табл. 3). Враховували види активності відповідальні за протипухлинну дію, імовірність яких перевищувала 30 %.

Як показали результати досліджень, у сполук прогнозували ряд ефектів, що лежать в основі механізмів протипухлинної активності (табл. 3). Дані віртуального скринінгу стали обґрунтуванням для вивчення цитостатичної активності синтезованих сполук (табл. 4).

Проведені біологічні дослідження показали (табл. 4), що на особливу увагу заслуговують

Таблиця 2 – АОА досліджуваних сполук в умовах окисної модифікації білка *in vitro*

Сполука	$\lambda=254$ нм	$\lambda=272$ нм	$\lambda=280$ нм	$\lambda=274$ нм	$\lambda=363$ нм
Інтакт	0,150±0,008	0,055±0,006	0,034±0,004	0,070±0,011	0,074±0,004
Контроль	1,20±0,26	0,930±0,138	0,90±0,11	0,540±0,023	0,53±0,02
НН-1	0,920±0,046*	0,870±0,018	0,820±0,024	0,320±0,026*	0,33±0,03*
НН-13	0,920±0,079*	0,90±0,03	0,850±0,008	0,510±0,018*	0,530±0,018
НН-16	0,900±0,001*	0,900±0,001	0,820±0,064	0,300±0,001*	0,290±0,027*
НН-21	0,71±0,04*	0,810±0,024*	0,700±0,001*	0,300±0,001*	0,390±0,024*

Примітка. * – вірогідність розходжень стосовно контролю ($p<0,05$).

Таблиця 3 – Комп'ютерне прогнозування біологічної активності досліджуваних сполук

№	Вид біологічної активності	Pa/Pi*	Сполука			
			НН-1	НН-13	НН-16	НН-21
1	Cyclin-dependent kinase 2 inhibitor	Pa	0,625	0,596	0,625	0,596
		Pi	0,010	0,013	0,010	0,013
2	Growth factor antagonist	Pa	0,625	0,625	0,625	0,625
		Pi	0,017	0,017	0,017	0,017
3	Tumour necrosis factor alpha release inhibitor	Pa	0,590	0,468	0,590	0,468
		Pi	0,029	0,073	0,029	0,073
4	Epidermal growth factor receptor kinase inhibitor	Pa	0,391	0,417	0,391	0,417
		Pi	0,007	0,006	0,007	0,006
5	Ligase inhibitor	Pa	0,371	0,455	0,371	0,455
		Pi	0,047	0,022	0,047	0,022
6	Tyrosine kinase inhibitor	Pa	0,315	0,309	0,315	0,309
		Pi	0,008	0,008	0,008	0,008
7	Cytostatic	Pa	0,358	0,457	0,358	0,457
		Pi	0,066	0,029	0,066	0,029
8	Topoisomerase II inhibitor	Pa	0,358	0,358	0,358	0,358
		Pi	0,193	0,193	0,193	0,193

Примітка. Pa – ймовірність присутності, Pi – ймовірність відсутності біологічної дії.

Таблиця 4 – Цитостатична активність (%) досліджуваних сполук відносно деяких клітинних ліній

Сполука	Breast	Lung	CNS
НН-1	103	91	94
НН-13	72	54	90
НН-16	94	99	116
НН-21	49	49	54

похідні 4-ацилгідразинохіназоліну (НН-21), що пригнічують ріст тканини мозку і легень, уражених раком, на 51 %, а ріст пухлини молочної залози – на 46 %.

Похідні 4-іліденгідразинохіназолінів (НН-1, НН-13, НН-16) були малоактивними, і тільки сполука НН-13 проявляла цитостатичну активність на 46% щодо раку легень (табл. 4).

Необхідно відзначити, що найбільш перспективними цитостатиками є похідні 4-ацилгідразинохіназолінів (НН-21). Однією з ланок гіпотетичного механізму протипухлинної дії НН-21 є не антирадикальна і не антиперекисна активність, а її здатність запобігати дефрагментації білка, що супроводжується зниженням рівня карбонільних і карбоксильних груп у структурі модифікованої білкової молекули.

Проведені дослідження показали, що АФК і продукти пероксидації ліпідів, найімовірніше,

відіграють велику роль на стадії ініціації і початку відносного росту пухлини, а на стадії злоякісного переродження переважає окисна модифікація білка, що узгоджується з літературними даними [21].

Таким чином, перспективним напрямком пошуку і створення цитостатиків є похідні хіназоліну, які проявляють антиоксидну та антирадикальну активність, гальмують окисну модифікацію білка, що є передумовою для подальших наших досліджень.

ВИСНОВКИ. 1. Досліджувані сполуки – похідні 4-гідразинохіназоліну – мають антирадикальну, антиоксидну активність і здатні гальмувати окисну модифікацію білка.

2. Похідні 4-гідразинохіназоліну, що гальмують окисну дефрагментацію та накопичення карбонільних і карбоксильних груп у молекулах білка, проявляють цитостатичну дію відносно трьох ліній ракових клітин (пухлини мозку, легень і молочної залози).

3. Виявлено деякий взаємозв'язок між цитостатичною дією похідних 4-гідразинохіназоліну і здатністю інгібувати окисну модифікацію білка, що є експериментальним обґрунтуванням для подальшого пошуку нових протиракових засобів у цьому ряді.

ЛІТЕРАТУРА

1. Губський Ю.І., Дунаєв В.В., Беленічев І.Ф. та ін. Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічно активних речовин при ініціюванні вільнорадикальних процесів у досліджах *in vitro* // *Метод. рек.* – К.: Державний фармакологічний центр МОЗ України, 2002. – 26 с.

2. Boyd N.F. Evidence of lipid peroxidation in premenopausal women with mammography dysplasia // *Cancer Lett.* – 1999. – **50**, № 12. – P. 31-37.

3. Cheng K.C. 8-Hydroxyguanine an abundant form of oxidative DNA damage, causes Q-T and A-C substitutions // *J. Biol. Chem.* – 1998. – **267**, № 1. – P. 166-177.

4. Daneshvar B., Frandsen H. G-Qlytamyl semialdehyde an 2-amino-adipic semialdehyde: Biomarkers of oxidative damage to proteins // *Biomarkers.* – 1997. – **2**, № 3. – P. 117-123.

5. Esterbauer H. Free radicals, lipid peroxidation and cancer. – London: Academic Press, 1992. – 428 p.

6. Esterbauer H., Zollner H., Schaur R.J. Hydroxyalkenyls: cytotoxic products of lipid peroxidation // *ISI Atlas Sci. Biochem.* – 1998. – **1**, № 3. – P. 311-317.

7. Floyd R.A. The role of 8-hydroxyguanine carcinogenesis // *Carcinogenesis.* – 1990. – **11**, № 5. – P. 1447-1450.

8. Hennenken C., Buring J., Peto R. Antioxidant vitamins – benefits not yet proved // *The New England J. Med.* – 1994. – **330**. – P. 1080-1081.

9. Kruk I., Michalska T., Lichszeld K. The effect of thymol and its derivatives on reactions generating reactive oxygen species // *Chemosphere.* – 2000. – **49**, № 3. – P. 1059-1064.

10. Lynch M.A. Interleukin-1 beta exerts a myriad of effects in the brain and in particular in the hippocampus: analysis of some of these actions // *Vitam. Horm.* – 2002. – **64**. – P. 18-219.

11. Minami M. Cytokines and Chemokines: mediators for intercellular communication // *Yakugaku Zasshi.* – 2001. – **121**, № 12. – P. 875-885.

12. Quinn P. Localization of vitamin E in membranes // *Subcell. Biochem.* – 1998. – **30**, № 3. – P. 319-343.

13. Ruiz-Ortega M., Lorenza O., Egido J. Angiotensin III increases MCP-1 and activates NF-Kappa B and AP-1 in cultures mesangial and mononuclear cells // *Kidney. Int.* – 2000. – **57**. – P. 2285-2298.

14. Sanders D.B., Larson D.F., Hunter K. et al. Comparison of tumor necrosis factor-alpha effect on the expression of i-NOS in macrophage and cardiac myocytes // *Perfusion.* – 2001. – **16**. – P. 64-74.

15. Semenza Q.L., Agani F., Feldser D. et al. Hypo-

xia, HIF-1 and the pathophysiology of common human diseases // *Adv. Exp. Biol.* – 2000. – **475**. – P. 123-130.

16. Selim S. Separation and quantitative determination of traces of carbonyl compounds as their 2,4-dinitrophenylhydrazones by high-pressure liquid chromatography // *J. Chromatogr.* – 1997. – **36**, № 3. – P. 271-277.

17. Sculachev V.P. Mitochondria in the programmed death phenomena: a principle of biology: "It's better to die than to be wrong" // *IUBMB Life.* – 2000. – **49**. – P. 265-377.

18. Stoker A., Azzi A. Tocopherol-binding proteins: their function and physiological significance // *Antioxidants and Red/ox signaling.* – 2000. – **2**, № 11. – P. 397-404.

19. Shigenaga M.K. Assays for 8-hydroxy-2'-de-

oxyguanosine: A biomarker of oxidative DNA damage // *Free Radic. Biol. Med.* – 1997. – **10**, № 14. – P. 211-216.

20. Strle K., Zhou J.H., Shen W.H. Interleukines in the brain // *Crit. Rev. Immunol.* – 2000. – **21**, № 5. – P. 427-449.

21. Tyrell R.M., Applegate L.A., Tromvocs Y. The proximal promoter region of human heme oxygenase gene contains elements involved in stimulation of transcriptional activity by a variety of agents including oxidants // *Carcinogenesis.* – 1993. – **14**. – P. 761-765.

22. Ver Kleij A., Post J. Membrane phospholipid asymmetry and signal transduction // *J. Membr. Biol.* – 2000. – **178**, № 5. – P. 1-10.

23. Van Welie R.H.T., Van Sittart N.J. Mercapturic, protein, DNA adducts as biomarker of electrophilic chemicals // *Crit. Rev. Toxicol.* – 1998. – **22**, № 3. – P. 271-306.

ПОИСК ЦИТОСТАТИКОВ С АНТИОКСИДНЫМ МЕХАНИЗМОМ ДЕЙСТВИЯ СРЕДИ ПРОИЗВОДНЫХ 4-ГИДРАЗИНОХИНАЗОЛИНА

И.Ф. Беленичев, С.И. Коваленко, Н.А. Нестерова, А.В. Карпенко
ЗАПОРІЖСЬКИЙ ГОСУДАРСТВЕННИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Производные 4-гидразинохиназолина, имеющие антирадикальную, антиоксидную активность и способные тормозить окислительную модификацию белка, проявляют цитостатическое действие по отношению к трем линиям раковых клеток (опухоль мозга, легких и молочной железы). Показана определенная взаимосвязь между цитостатическим действием производных 4-гидразинохиназолина и способностью ингибировать окислительную модификацию белка, что является экспериментальным обоснованием для дальнейшего поиска новых противораковых средств в этом ряду.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: производные 4-гидразинохиназолина, антирадикальная и антиоксидная активность, окислительная модификация белка, рак мозга, легких и молочной железы, цитостатическое действие.

SEARCH OF CYTOSTATICS WITH ANTIOXIDANT MECHANISM OF ACTION AMONG DERIVATIVES OF 4-HYDRAZINOQUINAZOLINE

I.F. Bielenichev, S.I. Kovalenko, N.O. Nesterova, O.V. Karpenko
ZAPORIZHZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

Investigated derivatives of 4-hydrazinoquinazoline have antiradical, antioxidant activity and are able to brake oxidizing modification of protein, show cytostatic action in relation to three lines of tumour cells (tumours of brain, lungs and breast). It was revealed the certain interrelation between cytostatic action of derivatives of 4-hydrazinoquinazoline and ability to inhibition of oxidizing modification of protein, that is an experimental substantiation for the purposeful search of new anticancer means in this line.

KEY WORDS: derivatives of 4-hydrazinoquinazoline, antiradical and antioxidant activity, oxidizing modification of protein, cancer of brain, breast, lungs, cytostatic action.

Отримано 19.11.2003 р.

Адреса для листування: І.Ф. Беленічев, Запорізький державний медичний університет, пр. Маяковського, 26, Запоріжжя, 69035, Україна.

ГЛАДЕНЬКОМ'ЯЗОВІ КЛІТИНИ У ВНУТРІШНІХ ВІДДІЛАХ СЕРЦЯ ЩУРІВ І КУРЕЙ

Л.А. Філімонова

ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

Проведено просторово-часову ідентифікацію гладеньком'язових клітин у серці щурів і курей протягом перших 30 діб після народження. Показано, що за своїми властивостями, які виявляються на світло-оптичному рівні в гістологічних зрізах серця, ці клітини близькі до тих, що формують стінки судин. Найбільше їх у функціональних блоках клапанів, включаючи фіброзні кільця і сосочкові м'язи. У даних структурах вони топографічно зв'язані з еластичними волокнами, що вказує на їх причетність до синтезу еластину і характерно для цих клітин у стінках судин. Їх вміст перебуває у зворотній залежності від ступеня зрілості клапанів і тестує період активного формування колагено-еластичних структур, які адаптують елементи клапана до пульсації міокарда. Упродовж цього періоду клапани є, очевидно, найбільш уразливою ланкою в серці для дії чинників, що викликають його функціональне перевантаження. У щурів таким періодом є перші 30 діб після народження. Оскільки розвиток передсердно-шлуночкових клапанів у людини корелює в багатьох аспектах з таким у щурів і курей, отримані результати можна вважати експериментальним обґрунтуванням причин дезадаптації клапанів до пульсації міокарда у новонароджених дітей, які піддаються впливу стресів найрізноманітнішої етіології.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: серце щурів і курей, гладеньком'язові клітини, клапани, постнатальний період росту і розвитку.

ВСТУП. Серце – багатокомпонентна система організму, у якій роль і значення різних елементів сполучної тканини в забезпеченні його унікальної функції залишаються предметом пильного дослідження на різних структурних рівнях [16]. Показано, що еластичні волокна, поряд з колагеновими, становлять основу клапанного апарату серця людей, тварин, птахів і риб. Вони виявляються серед переважної кількості колагенових волокон також у фіброзних кільцях, мембранній частині міжшлуночкової перегородки, опорних елементах міокардіогістіонів і серединному шарі ендокарда [2, 6, 8, 9, 13].

Відомо, що синтез колагену здійснюється фібробластами [4], що у серці вже на ранніх етапах пренатального кардіогенезу формують строму зародкового міокарда [7] і здійснюють потім підтримку її дефінітивної структури у дорослому організмі. Однак даних про те, що ці ж клітини утворюють еластичні волокна в серці, як, утім, і в інших органах, немає. Хоча вважають, що в пухкій сполучній тканині еластин синтезується фібробластами. У той же

© Л.А. Філімонова, 2004.

час, твердо встановлено, що активно синтезувати еластин в різних органах здатні гладеньком'язові клітини (ГМК), а в оболонках магистральних судин це єдині клітини, що синтезують дану речовину [4]. Оскільки серце є похідною судинної стінки [1] і у дефінітивному стані ендокард зберігає її структурні елементи, логічно припустити, що синтез еластину в серці теж здійснюють ГМК. Крім того, ефект пульсації, що має місце в серці вже на ранніх етапах ембріогенезу [1], є одночасно і важливою умовою для еластогенезу та біосинтетичної активності ГМК, що, як показано в дослідях *in vitro*, підсилюється, якщо ці клітини ростуть на еластичній підкладці, яка ритмічно скорочується [10].

В ембріогенезі мишей експресія генів, відповідальних за синтез білків, характерних у дорослому організмі ссавців тільки для судинних ГМК, спостерігається всюди в серцевій трубці, що розвивається, і це вказує на тісний зв'язок міокардіогенезу та диференціювання ГМК і на те, що роль цих клітин у розвитку серця не обмежується тільки формуванням судин [12, 15]. У дорослому серці ссавців окремі ГМК

виявляються в зовнішній частині серединного шару ендокарда й біля основи стулок клапанів, де їм приписується дія сфінктерів [6]. Інші відомості про наявність цих клітин у серці у відомій нам літературі відсутні, хоча є дані про те, що на світловому й електронно-мікроскопічному рівнях на бічних поверхнях кардіоміоцитів (КМЦ) виявляються поодинокі сполучнотканинні клітини, роль яких не зовсім зрозуміла [3], що можуть мати гладеньком'язову природу.

З огляду на вищевикладене і той факт, що в ранній постнатальний період серце ссавців і птахів посилено росте, що супроводжується активним функціонуванням усіх його клітинних елементів і наявністю відповідної динаміки їхньої кількості в різних структурних елементах [11], метою нашого дослідження було виявити ГМК у серці щурів і курей протягом першого місяця після народження.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Використовували 30 білих безпородних щурів і 30 курей через 1, 3, 5, 7, 10 і 30 днів після народження. На кожен термін припадало 5 тварин і 5 птахів. Після евтаназії їх розрізали, видаляли в них серця, які фіксували в розчині Буена, потім проводили стандартну обробку матеріалу для виготовлення парафінових зрізів. Останні депарафінували й фарбували гематоксиліном і еозинном для оглядової характеристики та за Маллорі-Слінченко, для диференційованого виявлення елементів сполучної та гладеньком'язової тканини [5].

Вивчали фронтальні зрізи серця товщиною 3-5 мкм, виготовлені через середину органа від його основи до верхівки. Виділяли такі структурні компоненти: фіброзні кільця, міжшлуночкову перегородку, клапани (стулки і сухожилкові струни), сосочкові і трабекулярні м'язи, а також судини щільного міокарда стінок обох шлуночків. У цих елементах серця ідентифікували ГМК: за структурними ознаками, видимими у світловий мікроскоп і характерними для цих клітин, розташованих в інших внутрішніх порожнистих органах, а також у стінках кровоносних судин [4]. Так, відомо, що ГМК, незалежно від місця локалізації, мають гладенькі контури і веретеноподібну форму з загостреними кінцями; їхня довжина варіює в межах від 30 мкм у стінках дрібних судин до 0,5 мм у стінках матки під час вагітності, однак довжина більшості волокон становить 0,2 мм, а товщина – близько 8 мкм. Їхні ядра відрізняються від ядер інших клітин, у тому числі від ядер фібробластів, тим, що при скороченні м'язового волокна вони стискаються, набу-

ваючи звивистої форми, при розслабленні – різко подовжуються. Цитоплазма не має поперечної смугастості.

Оцінку вмісту гладком'язових ГМК у перерахованих вище елементах серця проводили шляхом підрахунку кількості ядер цих клітин на 200 ядер КМЦ і клітин сполучної тканини ендокарда чи ендомізю при оптичному збільшенні мікроскопа у 600 разів. Дані виражали у відсотках, статистичну обробку здійснювали в пакеті програм "Statgraphics 4.0" з використанням критерію t за Стьюдентом, розбіжності вважали достовірними при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Отримані нами дані свідчать про те, що ГМК локалізуються в сполучній тканині серед еластичних і колагенових волокон, які мають блакитне забарвлення на препаратах, пофарбованих за Маллорі-Слінченко. Так, у фіброзних кільцях ці клітини розташовуються в місцях виходу аорти і легеневого стовбура та навколо атріовентрикулярних отворів, а також у мембранній частині міжшлуночкової перегородки. Тут ГМК утворюють скупчення, у яких вони орієнтовані в різних напрямках. Звертає на себе увагу той факт, що ці клітини утворюють шар на межі з КМЦ. Сткладається враження, що саме вони забезпечують прикріплення вільних кінців клітин серцевого м'яза до фіброзної основи кілець. Дане спостереження узгоджується з дослідженням розміщення в міжшлуночкової перегородці серця людей еластичних волокон [8], які виявлено у великій кількості в перехідній зоні між кардіальним м'язом і мембранозною частиною міжшлуночкової перегородки, що підтверджує причетність ГМК до синтезу еластину в серці. Показано, що ці волокна утворюють єдину структуру з волокнами сухожилок, які, у свою чергу, з'єднуються з колагеном I типу, що складає центральну частину мембрани. Послідовна трансформація еластичних волокон у м'язово-сухожилковому переході у колаген мембрани забезпечує функціональну специфіку цієї ділянки, для якої характерне поєднання високої еластичності, рухливості і здатності до прогресивного збільшення опору тиску [8].

Аналогічну гістотопографічну єдність еластину і ГМК ми спостерігали також у основі стулок впускних і випускних клапанів, де серединний колагеновий шар стулок переходить безпосередньо в щільну сполучну тканину фіброзних кілець і де ці клітини утворюють компактні пучки, що збігається з даними [6]. Крім того, у передсердно-шлуночкових клапанах ГМК розташовуються по всій довжині стулок рівнобіжними

рядами ближче до їхньої передсердної поверхні, у місцях, де відзначається найбільша концентрація еластичних волокон [2].

Тяжі ГМК ми виявили в місцях зчленування сухожилкових струн передсердно-шлуночкових клапанів із сосочковими м'язами. Тут роль і значення цих клітин як продуцентів еластину, судячи з результатів досліджень [13], важко переоцінити. Показано, що в серці людини робота сухожилкових струн відповідно до пульсації міокарда забезпечується завдяки взаємодії еластичних і колагенових волокон, механізм якої загалом зводиться ось до чого. Пучки колагенових фібрил хвилеподібно розміщуються в центрі струн у період, коли сосочкові м'язи розслаблені, і випрямляються при розтягуванні струн у результаті скорочення сосочкових м'язів. Така модель колагену послаблює пікову напругу, що розвивається в процесі скорочення сосочкових м'язів, і це запобігає розриву струн. Повернення колагену хвилястої конфігурації в період релаксації відбувається завдяки еластичним волокнам, що розташовуються в струнах навколо колагенового ядра під клітинами ендотелію. Було зроблено висновок про те, що адекватна реакція струн до безупинно повторюваного впливу напруги забезпечується одночасно механічною міцністю колагену й унікальною властивістю еластину до оборотного розтягування, що розглядається ними як морфологічний субстрат адаптаційної здатності, заснованої на функціональній гетерогенності колагенових і еластичних волокон [13].

Тісний контакт ГМК із КМЦ ми спостерігали також уздовж сосочкових м'язів, де вони

утворюють ланцюжки (рис. 1), і в основі цих м'язів, де вони розташовуються у вигляді пучків. Тут чітко ілюструється той факт, що ГМК розміщуються в сполучній тканині ендокарда чи ендомізю.

Навколо судин міокарда ГМК, крім стінок самих судин, також локалізуються в сполучній тканині ендомізю. В інших ділянках щільного міокарда обох шлуночків і в мережі трабекулярних м'язів ці клітини нами не виявлені.

Розміри ГМК в обох досліджуваних видах приблизно однакові. Так, їхня товщина складає у всіх структурах, крім клапанів, близько 4 мкм, у клапанах – приблизно 8 мкм. Довжина у цих клітин у серці щурів варіює в межах від 0,022 до 0,053 мм, становлячи в середньому 0,035 мм. У серці курей вона варіює в межах від 0,024 до 0,031 мм, складаючи в середньому 0,029 мм. Розміри ГМК у серці, мабуть, так само, як в інших органах, залежать від їхнього функціонального стану, що регулюється вегетативною нервовою системою [6]. Виявляються клітини, ядра яких стиснуті чи мають звивисту конфігурацію, що характерно для цих клітин у стані скорочення. Вони мають також веретеноподібну і витягнуту форми з дуже довгими ядрами, що характерно для цих клітин, відповідно, в стані релаксації чи сильного натягнення. Різні морфологічні варіанти ГМК розташовуються практично поруч один з одним, особливо це характерно для сосочкових м'язів.

У серці щурів велика кількість ГМК визначається у клапанах обох шлуночків (рис. 1), причому через добу після народження їх значно більше в клапанах лівого шлуночка. Потім кількість клітин у цих структурах знижується, найін-

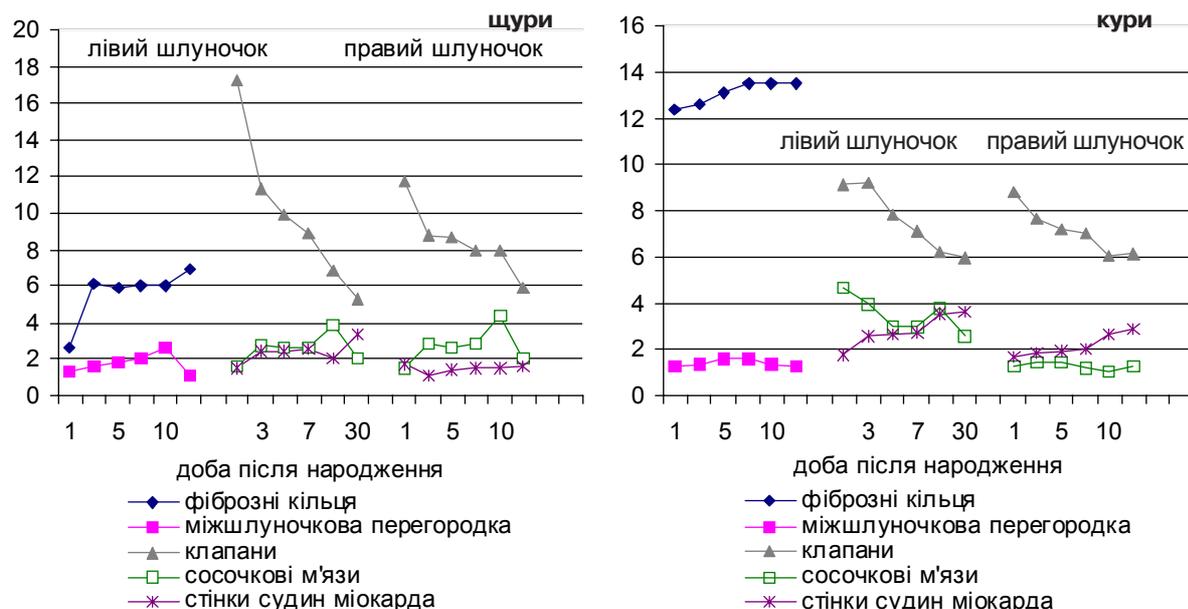


Рис. 1. Гладеньком'язові клітини в структурних елементах серця (%).

тенсивніше – протягом перших 3 днів. Через 30 діб після народження ГМК стає менше порівняно з 1-ю добою: у клапанах лівого шлуночка – в 3,3 раза, у клапанах правого шлуночка – у 2,0 рази.

У фіброзних кільцях у досліджуваний період кількість клітин, навпаки, зростає, найінтенсивніше – протягом перших 3 діб. Через 30 днів їх стає в 2,6 раза більше, ніж через добу після народження.

У сосочкових м'язах кількість ГМК через 10 днів збільшується порівняно з 1-ю добою: у лівому шлуночку – в 2,3 раза, у правому – у 2,9 раза; між 10 і 30 днями – знижується в обох шлуночках.

У міжшлуночкової перегородці, де, як відзначалося вище, ці клітини виявляються в основному у мембранній частині, кількість їх у досліджуваний період залишається приблизно на одному рівні.

У стінках судин міокарда лівого шлуночка ГМК більше, ніж у стінках судин міокарда правого шлуночка, причому через 30 діб після народження – у 2,1 раза.

До кінця досліджуваного періоду вміст ГМК у фіброзних кільцях і клапанах обох шлуночків серця щурів у середньому складає 6 %, в інших структурних елементах залишається в межах 1-2 %.

У серці курей, на відміну від серця щурів, протягом усього досліджуваного періоду найбільша кількість ГМК визначається у фіброзних кільцях (рис. 1), де через добу після народження їх більше, ніж у щурів, у 4,6 раза і через 30 діб – у 1,9 рази.

У клапанах лівого і правого шлуночків, на відміну від таких у щурів, кількість цих клітин приблизно однакова, через добу після народження їх менше, ніж у щурів, в 1,9 й 1,3 раза відповідно ($p > 0,05$), і так само, як у щурів, вміст ГМК у цих структурах знижується. Через 30 днів після народження їх стає менше, ніж у фіброзних кільцях, у 2,2 раза.

У міжшлуночкової перегородці курей цих клітин налічується практично стільки ж, скільки у щурів.

У сосочкових м'язах лівого шлуночка ГМК міститься більше, ніж у правому шлуночку, в усі терміни досліджуваного періоду, причому через добу після народження їх у 2,8 раза більше, ніж до цього часу у сосочкових м'язах лівого шлуночка щурів, через 30 днів вміст клітин наближається до такого у щурів.

У стінках судин щільного міокарда кількість цих клітин так само, як у щурів, зростає в досліджуваний період, але особливо інтенсивно –

в судинах правого шлуночка, де через 30 діб їх стає в 1,8 раза більше, ніж у щурів.

Таким чином, ГМК виявляються в основному у функціональних блоках клапанного апарату, включаючи фіброзні кільця, до яких кріпляться стулки, і сосочкові м'язи, що зчленовуються із сухожилковими струнами. Це підкреслює тісну єдність вищевказаних елементів на всіх рівнях організації, у тому числі на клітинному, котрий демонструється в даному дослідженні. Структурно-функціональна їх єдність формується, мабуть, уже на ранніх етапах ембріогенезу, коли, як показано на прикладі серця людини між 5 і 19 тижнями розвитку [14], міокардіальний гребінь трансформується у сосочкові м'язи, а охоплюючи його, ендокардіальні подушки ремодулюються у клапани. При цьому тільки хордова частина подушок залишається прикріпленою до сосочкового м'яза за допомогою колагенових і еластичних волокон, що із сухожилкових струн продовжуються, з однієї сторони, в стулки клапана, а з іншої – у сосочкові м'язи. Очевидно, у всіх цих структурах еластин, який продукується ГМК, виконує ту саму функцію: пасивно пружинячи, повертає розтягнуті колагенові волокна у вихідний стан, що адаптує сполучнотканинні елементи клапанного апарату до пульсації міокарда.

ВИСНОВКИ. 1. ГМК у серці тварин і птахів істотно не відрізняються за морфологією, що означає відсутність у них видової специфічності.

2. За своїми властивостями ці клітини близькі до тих, що виявляються в стінках судин.

3. Динаміка вмісту ГМК у клапанах тварин і птахів протягом перших 30 діб після народження має односпрямовану тенденцію. Істотна відмінність полягає в більшій вихідній кількості цих клітин у клапанах серця щурів.

4. Вміст ГМК у клапанах перебуває у зворотній залежності від ступеня їх зрілості й тестує період активного формування колагеново-еластичних структур, що адаптують елементи клапанів до пульсації міокарда. Протягом цього періоду клапани є, мабуть, найбільш уразливою ланкою у серці для дії факторів, що викликають його функціональне перевантаження.

5. Отримані результати можна вважати експериментальним обґрунтуванням можливих причин дезадаптації клапанів до пульсації міокарда у новонароджених дітей, які піддаються впливу стресів найрізноманітнішої етіології.

ЛІТЕРАТУРА

1. Карлсон Б. Основы эмбриологии по Пэттену: Пер. с англ. – М.: Мир, 1983. – 2. – С. 243-274.
2. Кульчицкий К.И., Соколов В.В., Марущенко Г.Н. Клапаны сердца. – К.: Здоров'я, 1990. – 184 с.
3. Рыбкин И.И. Структурный анализ миокарда 2-месячных крыс при культивировании in vitro с позиций тканевого гомеостаза // Морфология. – 1995. – № 2. – С. 49-52.
4. Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань. – М.: Медицина, 1981. – 312 с.
5. Слинченко Н.З. Быстрая и прочная окраска соединительной ткани, эластина, фибрина и фибриноидов // Арх. пат. – 1964. – № 2. – С. 8-10.
6. Хэм А., Кормак Д. Гистология: Пер. с англ. – М.: Мир, 1983. – 4. – С. 6-48.
7. Dettman R.W., Denetclaw W.Ir., Ordahl C.P., Bristow I. Common epicardial origin of coronary vascular smooth muscle, perivascular fibroblasts and intermyocardial fibroblasts in the avian heart // Developmental Biology. – 1998. – 193. – № 2. – P.169-181.
8. Ferraz-de-Carvalho C.A., Liberti E.A. The membranous part of the human interventricular cardiac septum // Surg. and Radiol. Anat. – 1998. – 20, № 1. – P. 13-21.
9. Gallego A., Duran A.C., De Andres A.V. et al. Anatomy and development of the sinoatrial valves in the dogfish // Anatomical Record. – 1997. – 248. – № 2. – P. 224-232.
10. Leung D., Glagov S., Mathews M. Cyclic stretching stimulated synthesis of matrix components by arterial smooth muscle cells in vitro // Science. – 1976. – 19. – P. 475-477.
11. Mandarim-de-Lacerda C.A., Pessanha M.G. Stereology of the myocardium in embryos and neonates of the rat // Acta Anatomica. – 1995. – 154, № 4. – P. 261-266.
12. Miano J.M., Olson E.N. Expression of the smooth muscle cell calponin gene marks the early sarcolemmal and smooth muscle cell lineages during mouse embryogenesis // J. Biol. Chem. – 1996. – 271, № 12. – P. 7095-7103.
13. Millington-Sandres C., Meir A., Lawrenci L., Stolinski C. Structure of chordae tendineae in the left ventricle of the human heart // J. of Anatomy. – 1998. – 192, № 4. – P. 573-581.
14. Oosthoek P.W., Wenink A.C., Wisse L.J., Gittenberger-de-Groot A.C. Development of the papillary muscles of the mitral valve: morphogenetic background of parachute-like asymmetric mitral valves and other mitral valve anomalies // J. of Thoracic and Cardiovasc. Surg. – 1998. – 116, № 1. – P. 36-46.
15. Ya J., Markman M.W., Wagenaar G.T. et al. Expression of the smooth-muscle proteins alpha-smooth-muscle actin and calponin, and of the intermediate filament protein desmin are parameters of cardiomyocyte maturation in the prenatal rat heart // Anatom. Record. – 1997. – 249, № 4. – P. 495-505.
16. Zhu X., Lough J. Expression of alternatively spliced and canonical basic fibroblast growth factor mRNAs in the early embryo and developing heart // Developmental Dynamics. – 1996. – 206. – № 2. – P. 139-145.

ГЛАДКОМЫШЕЧНЫЕ КЛЕТКИ ВО ВНУТРЕННИХ ОТДЕЛАХ СЕРДЦА КРЫС И КУР

Л.А. Филимонова

ДНЕПРОПЕТРОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

Резюме

Проведена пространственно-временная идентификация гладкомышечных клеток в сердце крыс и кур в течение первых 30 суток после рождения. Показано, что по своим свойствам, которые выявляются на светооптическом уровне в гистологических срезах сердца, эти клетки ближе к тем, которые формируют стенки сосудов. Больше всего их определяется в функциональных блоках клапанов, включая фиброзные кольца и сосочковые мышцы. В этих структурах они топографически связаны с эластическими волокнами, что указывает на их причастность к синтезу эластина и что характерно для этих клеток в стенках сосудов. Их содержание находится в обратной зависимости от степени зрелости клапанов и тестирует период активного формирования коллагеново-эластических структур, адаптирующих элементы клапана к пульсации миокарда. В течение этого периода клапаны являются, очевидно, наиболее уязвимым звеном в сердце для действия факторов, вызывающих его функциональную перегрузку. У крыс таким периодом являются первые 30 суток после рождения. Поскольку развитие предсердно-желудочковых клапанов у человека коррелирует во многих аспектах с таковым у крыс и кур, полученные результаты можно считать

экспериментальным обоснованием причин дезадаптации клапанов к пульсации миокарда у новорожденных детей, которые подвергаются воздействию стрессов самой различной этиологии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сердце крыс и кур, гладкомышечные клетки, клапаны, постнатальный период роста и развития.

SMOOTH MUSCULAR CELLS IN THE INTERNAL PARTS OF HEART OF RATS AND CHICKS

L.A. Filimonova

DNIPROPETROVSK STATE MEDICAL ACADEMY

Summary

Spatial-temporal identification of smooth muscular cells in rats and chicks within 30 days after birth has been performed. It has been shown, that according to their properties which are revealed on a light-optic level in the histologic sections of the heart, they are closer to those which form the vessel walls. In the functional blocks of valves including fibrous rings and papilla muscles they are presented most of all. In these structures they are topographically connected with elastic fibers; this points to their association to elastine synthesis which characterizes these cells in the blood vessels. Their contents is in reverse dependence on the stage of valves maturity and tests the period of active formation of collagen-elastic structures adapting valve elements to myocardium pulsating. Within this period the valves are probably the most vulnerable chain for factors action in the heart which causes their functional overload. The first 30 days after birth is namely this period in rats. As the development of atrio-ventricular valves in man correlates in many aspects with that one in rats and chickens, the results obtained may be considered as experimental grounding for the causes of valves desadaptation to myocardium pulsating in the newborn children who are subjected to stress action of different etiology.

KEY WORDS: heart of rats and chicks, smooth-muscular cells, valves, postnatal period of growth and development.

Отримано 24.10.2003 р.

Адреса для листування: Л.А. Філімонова, пр. Гагаріна, 20, кв. 15, Дніпропетровськ, 49005, Україна.

ПОЛІФЕНОЛЬНІ СПОЛУКИ ВИНОГРАДУ КУЛЬТУРНОГО

В.Ю. Кузнєцова, В.С. Кисличенко
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Представлено методики визначення якісного складу та кількісного вмісту фенольних сполук (антоціанів, оксикоричних кислот, флавоноїдів, дубильних речовин) у листі та вичавках винограду культурного двох сортів – Каберне-Совіньон та Ізабелла. Проведено статистично обробку отриманих результатів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: виноград культурний, листя, вичавки, кількісне визначення, антоціани, флавоноїди, оксикоричні кислоти, дубильні речовини.

ВСТУП. Сьогодні велику увагу привертають поліфенольні сполуки, які здатні підтримувати кисневу забезпеченість тканин на оптимальному рівні та відігравати виняткову роль у профілактиці і лікуванні значних фізичних і психоемоційних навантажень, впливі екологічно несприятливих факторів. До цих речовин відносять прості феноли, кумарини, дубильні речовини, флавоноїди, оксикоричні кислоти. Найбільшу фізіологічну активність мають конденсовані таніни, які також називають олігомерами проантоціанідину [6, 7].

Олігомерні проантоціанідини мають виражену антиоксидну активність, яка прирівнюється до 2,6-ди-трет-бутил-4метилфенолу, та у 2 рази перевищує антиоксидну активність вітаміну Е і в 4 рази – вітаміну С. Це дає змогу використовувати рослини з високим вмістом поліфенольних сполук для лікування багатьох захворювань, пов'язаних з утворенням та накопиченням вільних радикалів. Серед них такі, як захворювання серця, венозна недостатність, тромбофлебіти, рак, алкоголізм тощо [5].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Метою нашої роботи було вивчення поліфенольних сполук листя та вичавок винограду культурного. Для дослідження використовували листя та вичавки винограду сортів Ізабелла та Каберне-Совіньон, які було отримано з Інституту винограду та вина "Магарач".

Якісний склад досліджуваної сировини встановлювали за допомогою загальноприйнятих якісних реакцій та хроматографічних методів аналізу на папері у різних системах розчинників: н-бутанол – оцтова кислота – вода

© В.Ю. Кузнєцова, В.С. Кисличенко, 2004.

(4:1:2), 5, 15, 30 % оцтова кислота. Хроматограми вивчали у денному та УФ-світлі до та після обробки хромогенними реактивами.

У листі винограду культурного двох сортів було виявлено не менше 20 речовин фенольної природи, не менше 15 речовин – у вичавках винограду культурного сорту Каберне-Совіньон та не менше 12 речовин – сорту Ізабелла.

У вичавках винограду культурного двох сортів було вивчено наявність та кількісний вміст антоціанів [3]. Для ідентифікації використовували якісні реакції з 10 % розчином основного ацетату свинцю та 10 % розчином лугу. Результати реакцій наведено у таблиці 1.

Для розділення, очищення та ідентифікації антоціанів застосовували паперову хроматографію у таких системах розчинників:

- А – бутанол – оцтова кислота – вода (4:1:5);
- В – мурашина кислота – концентрована хлористоводнева кислота – вода (5:2:3);
- С – хлористоводнева кислота – вода (1:99).

Наявність речовин визначали на хроматограмах до та після обробки 5 % водним розчином лугу, 10 % розчином основного ацетату свинцю. Було виявлено не менше 4 речовин, які ми віднесли до антоціанів.

Кількісний вміст антоціанів визначали спектрофотометричним методом за методикою [4]. До 2,5 г (точна наважка) порошку вичавок додавали 30 мл 70 % спирту, нагрівали зі зворотним холодильником на водяній бані 30 хвилин та фільтрували. Залишок змивали 10 мл 70 % етанолу. До фільтрату додавали 15 мл 1 % розчину хлористоводневої кислоти та 10 мл води очищеної. Нагрівали на водяній бані 80 хв, та після охолодження фільтрували,

змиваючи залишок 70 % спиртом, доки фільтрат знебарвиться. До фільтрату додавали 250 мл 70 % етанолу. Відбирали 50 мл отриманого розчину, випарювали у фарфоровій чашці до 3 мл та переносили цей залишок до ділильної лійки. Потім промивали фарфорову чашку 10 та 5 мл води послідовно і також переносили до ділильної лійки. Отриманий водний розчин вибовтували 3 рази бутанолом, при цьому кожного разу використовували по 15 мл органічного розчинника. Об'єднаний органічний шар доводили до 100 мл бутанолом. Оптичну густину одержаного розчину вимірювали на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 545 нм. Як розчин порівняння застосовували бутанол.

Вміст проціанідинів у відсотках у перерахунку на ціанідину хлорид визначали за наступною формулою:

$$X = \frac{A \times 500}{75 \times m},$$

де А – оптична густина досліджуваного розчину при довжині хвилі 545 нм;

m – маса наважки, г.

Визначення кількісного вмісту оксикоричних кислот проводили також спектрофотометричним методом [2].

Вміст суми оксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту обчислювали за формулою:

$$X = \frac{D \times 200 \times 50 \times 100}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times m \times 1 \times (100 - W)},$$

де D – оптична густина досліджуваного розчину;

m – наважка сировини, г;

W – втрата у масі при висушуванні, %;

$E_{1\text{ см}}^{1\%}$ – питомий показник поглинання хлорогенової кислоти, який дорівнює 531.

Кількісне визначення флавоноїдів також проводили спектрофотометричним методом. Як розчин порівняння використовували розчини, які склалися з 1 мл витягів, 1 краплі розведеної оцтової кислоти і були доведені 95 % спиртом до позначки у мірних колбах місткістю 25 мл.

Паралельно вимірювали оптичну густину Державного стандартного зразка (ДСЗ) гіперозиду, який готували аналогічно досліджуваним розчинам.

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на гіперозид і абсолютно суху сировину у відсотках (X) обчислювали за формулою:

$$X = \frac{D \times m_0 \times 100 \times 100 \times 100}{D_0 \times m \times 100 \times (100 - W)},$$

де D – оптична густина досліджуваного розчину;

D_0 – оптична густина ДСЗ гіперозиду;

m – маса сировини, г;

m_0 – маса ДСЗ гіперозиду, г;

W – втрата у масі при висушуванні сировини, %.

Визначення кількісного вмісту дубильних речовин проводили за методом Левенталя [1].

Вміст дубильних речовин у перерахунку на абсолютно суху речовину обчислювали за формулою (%):

$$X = \frac{(V - V_1) \times 0,004157 \times 250 \times 100 \times 100}{m \times 25 \times (100 - W)},$$

де V – об'єм розчину перманганату калію (0,02 моль/л), витраченого на титрування витягу, мл;

V_1 – об'єм розчину перманганату калію (0,02 моль/л), витраченого на титрування у контрольному досліді, мл;

m – маса сировини, г;

0,004157 – кількість дубильних речовин, що відповідає 1 мл розчину перманганату калію (0,02 моль/л) у перерахунку на танін, г;

250 – загальний об'єм витягу, мл;

25 – об'єм витягу взятого для титрування, мл;

W – втрата у масі при висушуванні сировини, %.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати якісних реакцій та кількісний вміст поліфенольних сполук у всіх об'єктах дослідження представлено в таблицях 2-5. Встановлено, що максимальна кількість антоціанів міститься у вичавках винограду культурного сорту Каберне-Совіньон та становить 5,38 %. Максимальну кількість флавоноїдів було виявлено у листі винограду культурного сорту Каберне-Совіньон. Найбільша кількість дубильних речовин також міститься у вичавках винограду сорту Каберне-Совіньон і складає 13,38 %. Вміст оксикоричних кислот у листі та вичавках винограду культурного сорту Ізабелла становить 5,10 і 1,54 % відповідно, у листі та вичавках сорту Каберне-Совіньон – 5,20 і 7,68 %. Отримані дані дають змогу прогнозувати досить високу фармакологічну активність досліджуваних об'єктів завдяки великому вмісту поліфенольних сполук, особливо у вичавках винограду сорту Каберне-Совіньон, які є відходами виробництва вин, соків та інших харчових продуктів.

ВИСНОВКИ. 1. У вичавках винограду культурного сортів Каберне-Совіньон та Ізабелла встановлено якісний склад та кількісний вміст

проантоціанідинів. Уперше наведено методику визначення кількісного вмісту проантоціанідинів за Європейською фармакопеєю, адаптовану до визначення цієї групи біологічно активних речовин у вичавках винограду культурного.

2. У листі двох сортів винограду культурного проведено визначення кількісного вмісту флавоноїдів у перерахунку на гіперозид.

3. У листі та вичавках обох сортів винограду культурного визначено кількісний вміст дубильних речовин та оксикоричних кислот.

4. Отримані результати стосовно кількісного визначення поліфенольних сполук у

листі та вичавках винограду культурного найбільш поширених промислових сортів Каберне-Совіньон та Ізабелла будуть використані при розробці аналітичної нормативної документації на вказану сировину.

5. Результати проведених досліджень свідчать про високий вміст поліфенольних сполук у вичавках та листі винограду культурного, тому вказана сировина була рекомендована до проведення розширеного фармакологічного скринінгу на кафедрі біохімії Національного фармацевтичного університету.

Таблиця 1 – Результати якісних реакцій на антоціани у вичавках винограду культурного

Об'єкт вивчення	Забарвлення витягу	Результати реакцій	
		колір осаду з 10 % розчином основного ацетату свинцю	колір розчину з 10 % розчином луку
Вичавки винограду культурного сорту Каберне-Совіньон	Яскраво-червоне	Темно-синій аморфний	Жовтувато-зелений
Вичавки винограду культурного сорту Ізабелла	Яскраво-малинове	Блакитний аморфний	Жовтувато-зелений

Таблиця 2 – Метрологічна характеристика середнього результату визначення антоціанів у вичавках винограду культурного сортів Ізабелла та Каберне-Совіньон

Сорт Ізабелла									
m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t (P, n)	Довірчий інтервал	$\epsilon, \%$
1	2		3	4	5	6	7	8	9
5	4	1,770	1,76	0,0019	0,0194936	0,95	2,78	1,76±0,05419	3,0791
		1,800							
		1,790							
		1,690							
		1,750							
Сорт Каберне-Совіньон									
m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t (P, n)	Довірчий інтервал	$\epsilon, \%$
1	2		3	4	5	6	7	8	9
5	4	5,380	5,38	0,00243	0,0220454	0,95	2,78	5,376±0,06129	1,14
		5,400							
		5,350							
		5,310							
		5,440							

Таблиця 3 – Метрологічна характеристика середнього результату визначення флавоноїдів у листі винограду культурного сортів Ізабелла та Каберне-Совіньон

Сорт Ізабелла									
m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t (P, n)	Довірчий інтервал	$\epsilon, \%$
1	2		3	4	5	6	7	8	9
5	4	2,970	3,10	0,00935000	0,043243	95%	2,78	3,100±0,1201	3,87
		3,050							
		3,100							
		3,160							
		3,220							
Сорт Каберне-Совіньон									
m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t (P, n)	Довірчий інтервал	$\epsilon, \%$
1	2		3	4	5	6	7	8	9
5	4	4,250	4,25	0,00183	0,0191311	0,95	2,78	4,254±0,05318	1,25022
		4,280							
		4,310							
		4,200							
		4,230							

Таблиця 4 – Метрологічна характеристика середнього результату визначення оксикоричних кислот у листі та вичавках винограду культурного сортів Ізабелла та Каберне-Совіньон

Листя винограду культурного сорту Ізабелла									
m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t (P, n)	Довірчий інтервал	$\varepsilon, \%$
1	2		3	4	5	6	7	8	9
5	4	4,900	5,10	0,02815000	0,075033	0,95	2,78	5,100±0,2083	4,08
		4,970							
		5,100							
		5,240							
		5,290							
Вичавка винограду культурного сорту Ізабелла									
m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t (P, n)	Довірчий інтервал	$\varepsilon, \%$
1	2		3	4	5	6	7	8	9
5	4	1,550	1,54	0,00173	0,0186011	0,95	2,78	1,544±0,05171	3,34916
		1,610							
		1,520							
		1,540							
		1,500							
Листя винограду культурного сорту Каберне-Совіньон									
m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t (P, n)	Довірчий інтервал	$\varepsilon, \%$
1	2		3	4	5	6	7	8	9
5	4	5,210	5,21	0,0042	0,0261534	0,95	2,78	5,208±0,07271	1,39605
		5,190							
		5,250							
		5,270							
		5,120							
Вичавка винограду культурного сорту Каберне-Совіньон									
m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t (P, n)	Довірчий інтервал	$\varepsilon, \%$
1	2		3	4	5	6	7	8	9
5	4	7,450	7,68	0,01895	0,061563	0,95	2,78	7,68±0,17115	2,22845
		7,700							
		7,800							
		7,770							
		7,680							

Таблиця 5 – Метрологічна характеристика середнього результату визначення дубильних речовин у листі та вичавках винограду культурного сортів Ізабелла та Каберне-Совіньон

Листя винограду культурного сорту Ізабелла									
m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t (P, n)	Довірчий інтервал	$\varepsilon, \%$
1	2		3	4	5	6	7	8	9
5	4	7,350	7,48	0,011620	0,048208	0,95	2,78	7,478±0,1338	1,79
		7,400							
		7,480							
		7,540							
		7,620							
Вичавка винограду культурного сорту Ізабелла									
m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t (P, n)	Довірчий інтервал	$\varepsilon, \%$
1	2		3	4	5	6	7	8	9
5	4	4,850	4,84	0,00355	0,0266458	0,95	2,78	4,84±0,07408	1,53048
		4,900							
		4,890							
		4,760							
		4,800							
Листя винограду культурного сорту Каберне-Совіньон									
m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t (P, n)	Довірчий інтервал	$\varepsilon, \%$
1	2		3	4	5	6	7	8	9
5	4	7,800	7,82	0,0048	0,0310483	0,95	2,78	7,822±0,08631	1,10348
		7,940							
		7,790							
		7,820							
		7,760							

Вичавка винограду культурного сорту Каберне-Совіньон									
m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t (P, n)	Довірчий інтервал	ε , %
1	2		3	4	5	6	7	8	9
5	4	13,380	13,38	0,00442	0,0297321	0,95	2,78	13,38±0,08266	0,61766
		13,400							
		13,480							
		13,350							
		13,300							

ЛІТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея СССР. Вып. 1: Общие методы анализа / МЗ СССР. – 11 изд., доп. – М.: Медицина, 1987. – 336 с.
2. Кисличенко В.С. Фармакогностичне вивчення представників родини агрусові, бруслинні, ранникові і розробка на їх основі лікарських засобів. Автореф. дис. ... д-ра фарм. наук. – Харьков, 1999. – 34 с.
3. Панчев С.С. Антоцианы в плодах и овощах. – М.: Пищевая промышленность, 1980. – 304 с.
4. European Pharmacopoeia. – 4rd Ed. – 2002.
5. Oszmianski J. Changes in grape seed phenols as effect of enzimic and chemical oxidation in vitro // J. Food Sci. – 1985. – **50**, № 50. – P. 1505.
6. Tibor F. Catechin and procyanidin composition of seed from grape cultivars grow in Ontario // J. Agr. and Food Chem. – 1997. – **5**, № 4. – P. 1156.
7. Trease G.E., Evans W.C. Pharmacognosy. – London; Philadelphia; Toronto; Sydney; Tokyo; WB Saunders, 1996. – 832 p.

ПОЛИФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ВИНОГРАДА КУЛЬТУРНОГО

В.Ю. Кузнецова, В.С. Кисличенко

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Представлены методики определения качественного состава и количественного содержания фенольных соединений (антоцианов, оксикоричных кислот, флавоноидов, дубильных веществ) в листьях и выжимках винограда культурного двух сортов – Каберне-Совиньон и Изабелла. Проведена статистическая обработка полученных результатов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: виноград культурный, листья, выжимки, количественное определение, антоцианы, флавоноиды, оксикоричные кислоты, дубильные вещества.

POLYPHENOLIC COMPOUNDS OF VINE CULTURAL

V.Yu. Kuznetsova, V.S. Kyslychenko

NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

Summary

The article presents the methods of determination of qualitative composition and quantitative content of phenolic compounds (antocyanins, hydroxycinnamic acids flavonoids tannins) in leaves and husks of vine cultural of two sorts – Kabarne Sovanjon and Isabella. The statistical analysis of the obtained results has been carried out.

KEY WORDS: vine cultural, leaves, husks, quantitative determination, antocyanins, flavonoids, hydroxycinnamic acids, tannins.

Отримано 23.12.2003 р.

Адреса для листування: В.С. Кисличенко, науково-дослідна частина, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкіна, 53, Харків, 61002, Україна.

ГІСТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СТЕБЕЛ І ЛИСТЯ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДІВ *ALNUS* І *DUSCHEKIA*

М.А. Кулагіна, О.В. Радько, А.Г. Сербін, Л.М. Сіра
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Вивчено накопичення поліфенольних сполук у листі, асимілюючих та здерев'янілих пагонах рослин роду *Alnus* (*A. incana*, *A. glutinosa*, *A. japonica*, *A. sibirica*, *A. hirsuta*, *A. rubra*) і роду *Duschekia* (*D. viridis*, *A. fruticosa*, *A. maximowiczii*).

Встановлено, що пагони таких видів, як *A. incana*, *A. sibirica*, *A. japonica*, *A. maximowiczii* та листя душекії, яка розповсюджена у Західній Україні, містять значну кількість біологічно активних речовин. Вони можуть бути використані поряд із супліддями *A. fruticosa* та *A. incana*.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: вільха, душекія, гістохімія, дубильні речовини.

ВСТУП. Кору та листя багатьох видів роду вільха (*Alnus*) родини березові (*Betulaceae*) широко використовують у народній медицині як протизапальні, антимікробні, кровоспинні, ранозагоювальні, протипухлинні та інші лікарські засоби [2]. На сьогодні офіційна медицина рекомендує супліддя вільхи клейкої та сірої як в'язучий і кровоспинний засіб [1]. Препарати із суплідь вільхи клейкої та сірої представлені на ринку шлунково- та кишковорозчинними таблетками "Альтан" і 2 % маззю "Альтан" [6].

Хемосистематична близькість інших видів родів *Alnus* Mill S.L. і *Duschekia* Opiz. до офіційних лікарських рослин спонукала більш детально вивчити представники *Betulaceae*, які б стали додатковим джерелом фармакологічно активних поліфенольних сполук. Раніше було встановлено морфологоанатомічні ознаки вегетативних органів представників родини *Betulaceae* [4]. Одним із фрагментів досліджень є розробка і впровадження гістохімічної експрес-оцінки танідовмісної рослинної сировини.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктами анатомо-гістохімічних досліджень були листя, зелені однорічні та здерев'янілі 2-3-річні пагони 6 видів роду *Alnus* (*A. incana* (L.) Moench., *A. glutinosa* (L.) Gaertn., *A. japonica* (Thunb.), *A. sibirica* (Spach) Turcz. ex Kom., *A. hirsuta* (Spach) Turcz. ex Rupr., *A. rubra* Bong.) секції *Gimnothyrsys* і 3 видів роду *Duschekia* (*D. viridis*

© М.А. Кулагіна, О.В. Радько – к.фарм.н., А.Г. Сербін – д.фарм.н., проф., Л.М. Сіра – к.фарм.н., 2004.

(*Chaix*) DC., *A. fruticosa* Rupr., *A. maximowiczii* Call.) секції *Alnobetulae* [5]. Достовірні зразки сировини заготовлено у 2001-2002 рр. в Карпатах та ботанічних садах України. Мікроскопічні препарати готували із свіжої сировини, досліджували загальноприйнятими методами з використанням традиційних барвників і реагентів [3]. Виявлення місць локалізації танідів проводили на серіях зрізів, оброблених феруму сульфатом (II) та іншими реактивами, специфічними для дубильних речовин, за методами Бородіна, Саніо, Гординера [3]. Діагностичні мікроскопічні ознаки та результати якісних реакцій фіксували за допомогою мікроскопа МБІ-6 з фотонасадкою, збільшення Х140, Х200, Х300, Х400, Х600, фотоплівка мікрат-200.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. За даними загальних гістохімічних реакцій встановлено, що в стеблах амінокислоти і резервні вуглеводи превалюють в паренхімі кори і лубу; значною лігніфікацією відзначаються трахеальні елементи деревини; більш інтенсивне забарвлення дають пектинові речовини та целюлоза оболонки луб'яної паренхіми і ситоподібних трубок. Результати гістохімічного визначення наявності дубильних речовин та їх розподілу по зонах стебла наведено в таблиці 1. Отримані дані свідчать: таніди присутні більшою чи меншою мірою як в асимілюючих, так і в здерев'янілих стеблах усіх видів, що досліджувалися. Використання комплексу реагентів дозволило

отримати достовірнішу і повнішу інформацію про наявність, відносну кількість і природу дубильних речовин в стеблах. Інтенсивність забарвлення дубильних речовин трьох гістологічних зон стебел, тобто їх кількісний розподіл між корою, деревиною і серцевиною, дещо відрізняється. Так, в зелених і здерев'янілих стеблах більшості видів (*A. glutinosa*, *A. incana*, *A. sibirica*, *A. japonica*, *A. maximowiczii*, *A. rubra*) таніди локалізуються у корі, що включає перидерму, первинну кору і луб, та в серцевинній паренхімі (*A. incana*, *A. sibirica*, *A. fruticosa*, *A. maximowiczii*). Трахеальні елементи деревини бідніші на таніди у більшості видів, але їх наявність відмічено у серцевинних променях деревини асимілюючих стебел *A. glutinosa*, *A. hirsuta*, *A. fruticosa* і здерев'янілих стебел *A. hirsuta*, *A. fruticosa*, *A. rubra*. Картина забарвлення феруму сульфатом (II) конденсованих дубильних речовин і таких, що гідролізуються, характеризується гамою переходів від жовто-зеленого в колінімі до жовто-коричневого на

межі корової паренхіми зі склеренхімою. Вміст склеренхімних волокон стає фіолетовим, наймолодші елементи лубу, що над камбієм, – жовто-коричневими, тоді як на межі зі склеренхімним кільцем луб набуває темно-фіолетового забарвлення. Клітини серцевини і перимедулярної зони забарвлюються у жовто-коричневий колір. Паренхіма серцевинних променів і навколишні тканини стають темно-фіолетовими. Зафіксовані забарвлення вказують на наявність і переважання дубильних речовин, що гідролізуються.

Результати гістохімічних реакцій, що свідчать про присутність і локалізацію танідів в тканинах листя, наведено в таблиці 2. У дослідженому листі найбільшу кількість дубильних речовин відзначено в тканинах центральної жилки, зокрема, колінімі, паренхімі та флоємі провідного пучка. Дані вказують на те, що найбільш багатим на таніди можна вважати листя вільхи клейкої, японської, червоної та душекії зеленої.

Таблиця 1 – Розподіл дубильних речовин по гістологічних зонах стебел видів родів *Alnus* і *Duschekia*

№ п/п	Види	Гістологічні зони стебла	Асимілюючі пагони				Здерев'янілі пагони			
			I	II	III	IV	I	II	III	IV
Рід <i>Alnus</i>										
1	В. клейка <i>A. glutinosa</i>	кора	***	☞☞	**	☞☞☞	***	☞☞☞	***	☞☞☞
		деревина	–	☞	–	☞	**	☞☞	**	☞
		серцевина	*	☞☞	**	☞☞	*	☞☞	**	☞
2	В. сіра <i>A. incana</i>	кора	***	☞☞	***	☞☞	**	☞☞☞	***	☞☞☞
		деревина	*	☞	**	☞☞	*	☞☞	**	☞
		серцевина	***	☞☞	*	☞☞☞	**	☞☞	**	☞☞
3	В. опушена <i>A. hirsuta</i>	кора	**	☞☞	***	☞☞	**	☞☞☞	**	☞☞☞
		деревина	*	☞☞	–	☞	–	☞☞	–	☞☞
		серцевина	*	☞☞	**	☞☞	–	–	–	–
4	В. сибірська <i>A. sibirica</i>	кора	***	☞☞☞	***	☞☞☞	***	☞☞☞	***	☞☞☞
		деревина	**	☞☞	*	☞	**	☞	*	☞
		серцевина	***	☞	*	☞☞	**	☞☞	**	☞☞
5	В. японська <i>A. japonica</i>	кора	***	☞☞	***	☞☞☞	**	☞☞☞	**	☞☞☞
		деревина	**	☞☞	**	☞☞	**	☞☞	*	☞
		серцевина	*	☞☞	*	☞	**	☞	**	☞☞
6	В. червона <i>A. rubra</i>	кора	***	☞☞☞	***	☞☞	**	☞☞☞	***	☞☞☞
		деревина	**	☞☞	*	☞	*	☞	–	–
		серцевина	*	☞☞	**	☞☞	**	☞☞	*	☞
Рід <i>Duschekia</i>										
7	Д. зелена <i>D. viridis</i>	кора	**	☞☞	**	☞	*	☞☞	**	☞☞
		деревина	**	☞☞	*	☞	*	☞☞	**	☞
		серцевина	*	☞☞	***	☞☞☞	**	☞	*	☞☞
8	В. чагарникова <i>A. fruticosa</i>	кора	*	☞	**	☞☞	**	☞☞	**	☞☞
		деревина	–	☞	–	☞	–	☞	**	☞
		серцевина	***	☞	***	☞☞☞	***	☞☞	*	☞☞
9	В. Максимовича <i>A. maximowiczii</i>	кора	**	☞☞	***	☞☞	**	☞☞☞	***	☞☞☞
		деревина	**	☞☞	**	☞☞	*	☞	*	☞☞
		серцевина	**	☞☞	***	☞☞☞	***	☞☞	***	☞☞☞

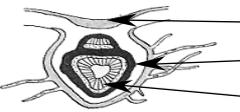
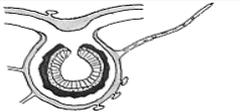
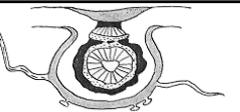
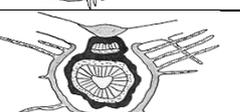
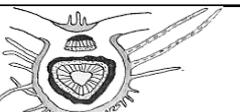
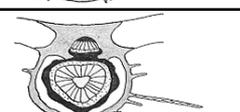
Примітка. Тут і в наступній таблиці:

Ступінь інтенсивності забарвлення: ... – інтенсивне; <<< – помірне; < – слабке; – – відсутне.

Методи і реагенти: I [– метод Бородіна; II ☞ – феруму сульфат (II); III X – метод Саніо;

IV a – метод Гордінера.

Таблиця 2 – Розподіл дубильних речовин по гістологічних зонах листків видів родів *Alnus* і *Duschekia*

№	Види	Зрізи жилки	Результати забарвлення				
			Тканини	I	II	III	IV
Рід <i>Alnus</i>							
1	В. клейка <i>A. glutinosa</i>		коленхіма паренхіма флоема пучка	*** ** *	☞☞ ☞☞ ☞	*** ** **	☞☞☞ ☞☞☞ ☞
2	В. сіра <i>A. incana</i>		коленхіма паренхіма флоема пучка	** ** **	☞☞ ☞☞ ☞	*** ** **	☞☞☞ ☞☞☞ ☞☞☞
3	В. опушена <i>A. hirsuta</i>		коленхіма паренхіма флоема пучка	** ** *	☞☞ ☞☞ ☞☞	** ** *	☞☞☞ ☞☞☞ ☞
4	В. сибірська <i>A. sibirica</i>		коленхіма паренхіма флоема пучка	* * *	☞☞ ☞ ☞	*** ** *	☞☞☞ ☞☞☞ ☞
5	В. японська <i>A. japonica</i>		коленхіма паренхіма флоема пучка	*** ** ***	☞☞ ☞☞ ☞☞	** ** *	☞☞☞☞ ☞☞☞ ☞☞☞☞
6	В. червона <i>A. rubra</i>		коленхіма паренхіма флоема пучка	*** ** ***	☞☞ ☞☞ ☞☞	*** ** **	☞☞☞ ☞☞☞☞ ☞☞☞☞
Рід <i>Duschekia</i>							
7	Д. зелена <i>D. viridis</i>		коленхіма паренхіма флоема пучка	*** ** ***	☞☞ ☞ ☞☞	** ** ***	☞☞☞☞ ☞☞☞ ☞☞☞☞
8	В. чагарникова <i>A. fruticosa</i>		коленхіма паренхіма флоема пучка	* ** *	☞ ☞☞ ☞	* ** **	☞ ☞☞☞☞ ☞
9	В. Максимовича <i>A. maximowiczii</i>		коленхіма паренхіма флоема пучка	** * *	☞ ☞ ☞	* ** **	☞☞☞ ☞☞☞ ☞☞☞

ВИСНОВОК. Результати гістохімічних досліджень дозволяють рекомендувати використану методику експрес-оцінки рослинної сировини на вміст танідів. Показники вмісту танідів в тканинах стебел і листя досліджених видів родів *Alnus* і *Duschekia* дають змогу віднести їх до перспективних постачальників

біологічно активних поліфенольних сполук. Як лікарську рослинну сировину доцільніше використовувати 1-3-річні пагони (*A. glutinosa*, *A. incana*, *A. sibirica*, *A. fruticosa*, *A. japonica*, *A. maximowiczii*, *A. rubra*) та листя розповсюджених в Україні вільхи клейкої, сірої та душекії зеленої.

ЛІТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея СССР. – 11-е изд. – М.: Медицина, 1989. – 400 с.
2. Радько Е.В., Комиссаренко Н.Ф., Сербин А.Г.

Систематика рода *Alnus* Mill. s. 1., химический состав и использование в медицине (обзор литературы) / Укр-ФА. – Харьков, 1997. – 37 с. – Деп. в Укр. ИНТЭИ

1.07.97, N462-Уі 97.

3. Фурст Г.Г. Методы анатомо-гистохимического исследования растительных тканей. – М.: Наука, 1979. – 155 с.

3. Хворост О.П., Радько О.В., Гонтова Т.М. Порівняльно-анатомічне вивчення деяких вегетативних органів рослин родини Березові // Фармац.

журн. – 1993. – № 1. – С. 8-10.

4. Черепанов С.К. Сосудистые растения СССР. – Л.: Наука, 1981. – 509 с.

5. Яковлева Л.В., Євдокимова О.С. Альтан – новий препарат для лікування виразкової хвороби шлунково-кишкового тракту // Вісник фармації. – 1993. – № 1-2. – С. 96-103.

ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СТЕБЛЕЙ И ЛИСТЬЕВ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДОВ ALNUS И DUSCHEKIA

М.А. Кулагина, Е.В. Радько, А.Г. Сербин, Л.М. Серая
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Изучено накопление полифенольных соединений в листьях, ассимилирующих и одревесневших побегах растений рода *Alnus* (*A. incana*, *A. glutinosa*, *A. japonica*, *A. sibirica*, *A. hirsuta*, *A. rubra*) и рода (*Duschekia*: *D. viridis*, *A. fruticosa*, *A. maximowiczii*).

Установлено, что побеги таких видов, как *A. incana*, *A. sibirica*, *A. japonica*, *A. maximowiczii* и листья душекии, которая распространена в Западной Украине, содержат значительное количество биологически активных веществ. Они могут быть использованы наряду с соплодиями *A. fruticosa* и *A. incana*.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **ольха, душекия, гистохимия, дубильные вещества.**

HISTOCHEMICAL STUDY OF STEMS AND LEAVES OF ALNUS AND DUSCHEKIA GENUS REPRESENTATIVE

M.A. Kulagina, O.V. Rad'ko, A.G. Serbin, L.M. Sira
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

Summary

It is studied the accumulation of polyphenol compounds in leaves and in assimilating and lignificated shoots of plants of *Alnus* genus (*A. incana*, *A. glutinosa*, *A. japonica*, *A. sibirica*, *A. hirsuta*, *A. rubra*) and of *Duschekia* genus (*D. viridis*, *A. fruticosa*, *A. maximowiczii*).

It is established that shoots of such species as *A. incana*, *A. sibirica*, *A. japonica* and leaves of distributed in West Ukraine *Duschekia* contain bioactive substances in large amounts. They can be used equally with infructescence of *A. fruticosa* and *A. incana*.

KEY WORDS: **alnus, duschekia, histochemistry, tannins.**

Отримано 08.12.2003 р.

Адреса для листування: О.В. Радько, кафедра ботаніки Національного фармацевтичного університету, вул. Блюхера, 4, Харків, 61168, Україна.

ВПЛИВ ЙОДОФТОРНОГО ДЕФІЦИТУ НА ФОРМУВАННЯ РЕЗЕРВІВ СЕРЕДНЬМОЛЕКУЛЯРНИХ ПЕПТИДІВ У БІЛИХ ЩУРІВ ТА КОРЕКЦІЯ

Л.М. Ростока

УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Вивчено вплив малої йодофторної дієти та її корекції на формування пулу середньомолекулярних пептидів (СМП) в сироватці крові та рівень їх екскреції з сечею у білих щурів. Встановлено, що недостатнє надходження в організм мікроелементів йоду та фтору призводить до накопичення в сироватці крові резервів СМП, що спричиняє розвиток ендогенної інтоксикації і неможливість адаптації організму до цих умов. Застосування добавок до малої йодофторної дієти йодованої олії в комбінації з NaF повністю нівелює розвиток негативних наслідків дефіциту мікроелементів йоду та фтору, сприяє формуванню фізіологічних СМП-резервів в сироватці крові, чим попереджує виникнення ендогенної інтоксикації за їх рахунок.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: середньомолекулярні пептиди, малої йодофторна дієта.

ВСТУП. Дефіцит йоду у навколишньому середовищі призводить до розвитку йодної недостатності і порушення функції щитоподібної залози [3, 8, 10, 11, 12-17]. Дія йодної недостатності на організм, у свою чергу, пов'язана з вмістом мікро- та макроелементів (марганцю, фтору, кальцію тощо) в довіллі та їх співвідношенням [2, 10]. Раніше нами було показано, що інтенсивність тканинного метаболізму йоду залежить від фторної забезпеченості організму, що і визначає тандемність у їх клітинній мобілізації [6].

Розлади тиреоїдної регуляції можуть відбиватись на функції ЦНС та нейроендокринному контролі метаболізму амінокислот і середньомолекулярних пептидів (СМП) [9, 10, 13], біосинтезі та деградації білків. СМП регулюють процеси транскрипції і трансляції, імуногенезу, тканинного дихання, є зв'язувальною ланкою між імунітетом, гомеостазом, неспецифічною резистентністю і відповідають за розвиток патологічного процесу, інтоксикації при нирковій недостатності, печінковій комі тощо [1, 4, 7, 9, 13]. Однак питання про вплив йодофторного дефіциту на формування СМП-резервів у сироватці крові при експеримен-

© Л.М. Ростока – к.мед.н., 2004.

тальній йодофторній недостатності та можливості корекції їх порушень залишається невивченим.

Дану роботу виконано в межах планової тематики кафедри біохімії та фармакології з курсом інфекційних хвороб Ужгородського національного університету. Вона є фрагментом наукової проблеми під номером реєстрації 0196U003532.

Метою роботи було вивчення впливу малої йодофторної дієти та її корекції на формування пулу СМП у сироватці крові та рівень їх екскреції із сечею у білих щурів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на 65 однорічних білих щурах. Їх поділили на 6 груп: 1-ша – контроль (12 тварин); 2-га – група щурів (21), яких утримували на малої йодофторному раціоні, що включав пшеницю, овес та кукурудзу, вирощені в гірських районах Карпат – біогеохімічних регіонах, які характеризуються недостатністю мікроелементів йоду та фтору в зовнішньому середовищі [2, 8, 16], для пиття використовували дистильовану воду. Тварини на цьому раціоні перебували 1, 2 і 3 міс. 3-тю, 4-ту, 5-ту і 6-ту групи склали щури, яким до малої йодофторного ра-

ціону протягом 2 міс. додавали з дистильованою водою: 3-й групі – NaF (7 тварин) з розрахунку 20 мкг F на 1 кг маси на добу; 4-й – KI (6) з розрахунку 2 мкг йоду на 1 кг маси на добу; 5-й – NaF та KI (8) у тих же концентраціях; 6-й – NaF та йодовану олію (11) в аналогічних дозах йоду та фтору, як для попередніх груп тварин.

У щурів збирали добову сечу, після чого декапітували та забирали кров.

Загальну фракцію СМП визначали скринінговим методом [1]. Розділення пептидів середньомолекулярної маси проводили за допомогою гель-фільтрації на сефадексі G-25 [5, 9]. Результати опрацьовували методом варіаційної статистики Фішера-Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено вплив йодофторної забезпеченості організму на формування фонду СМП в сироватці крові та рівень їх екскреції з сечею у експериментальних білих щурів в динаміці розвитку йодофторного дефіциту.

Гель-фільтрацією сироватки крові здорових білих щурів на сефадексі G-25 виділено 7 основних фракцій СМП, які є нінгідринпозитивними і дають біуретову реакцію, що підтверджує пептидну природу цих середньомолекулярних речовин. Виявлено відмінності у формуванні фракцій СМП у тварин протягом 3 міс. перебування на малоїодофторній дієті, що свідчить про реакцію організму на зростання дефіциту цих мікроелементів при зменшеному їх споживанні.

До кінця 1-го міс. експерименту в білих щурів, яких утримували на малоїодофторній дієті, достовірно зростають рівні компонентів 2, 3, 4, 5 та 7-ї фракцій. До кінця 2-го міс. дослідження концентрації компонентів 1-6 фракцій перевищують такі у контрольних тварин. У динаміці експерименту до 2 міс. спостерігаються зростання рівнів компонентів 1-ї та 2-ї і зниження концентрацій компонентів 7-ї фракції (табл. 1). Цікаво, що, незважаючи на

те, що через 3 міс. у тварин, які перебувають на малоїодофторній дієті, концентрації компонентів 3-ї та 4-ї фракцій знаходяться на вищих рівнях порівняно з контрольними показниками, в динаміці експерименту спостерігається зменшення концентрацій 1, 2, 5 та 6-ї фракцій.

Отже, при експериментальній йодній недостатності встановлено виражену перебудову спектра СМП, яка проявляється у вигляді зростання пулу СМП-компонентів до кінця 1, 2 і 3 міс. порівняно з контролем, найбільш суттєво – до 2 міс. експерименту, та адаптивне зниження рівнів СМП 1, 2, 5 та 6-ї фракцій в бік нормалізації через 3 міс. експерименту, правда, не до норми.

Всі ці результати, по-перше, вказують на неможливість повної адаптації тварин до йодофторної недостатності, а по-друге, обґрунтовують необхідність йодної та фторної корекції при перебуванні біооб'єктів в цих умовах для підтримання йодно-тиреоїдної регуляції метаболізму. В зв'язку з цим, нами проведено вивчення впливу йодофторної корекції на формування СМП-пулу у експериментальних білих щурів, які знаходились в умовах йодофторного дефіциту 2 міс., що відповідає терміну, який характеризується найбільш суттєвими зрушеннями у формуванні пулу СМП у сироватці крові експериментальних тварин.

Утримання білих щурів на малоїодофторній дієті протягом 2 міс. викликає вірогідний приріст сумарного фонду СМП в сироватці крові на 36,7 % проти показників у тварин, які перебували на повноцінному раціоні. При цьому в експериментальних тварин суттєво зростає (на 26,3 %) інтенсивність екскреції СМП з сечею відносно контролю, що, мабуть, є одним з важливих адаптаційних механізмів, який попереджує небезпечне їх накопичення та можливе наростання явищ ендогенної інтоксикації (табл. 2).

Додавання NaF при утриманні білих щурів на малоїодофторній дієті протягом 2 міс.

Таблиця 1 – Концентрація СМП сироватки крові у білих щурів в умовах йодофторної недостатності (ммоль/л триптофану)

№ фракції	Контроль n=12	1 міс. n=6	2 міс. n=6	3 міс. n=9
1	127,0±16,0	138,5±14,2	325,40±1,78***	139,00±5,37**
2	110,4±12,1	188,7±22,4*	288,1±15,0***	85,40±4,42**
3	72,4±12,2	131,2±10,3*	134,00±3,64*	126,50±4,24*
4	498,0±19,8	600,7±34,0*	688,7±36,5*	659,5±63,4*
5	69,90±9,31	123,70±6,55*	133,1±13,7*	49,40±3,99**
6	128,5±14,0	157,50±7,12	175,40±7,12*	128,00±6,15**
7	56,6±9,7	104,00±7,24*	48,50±4,21**	40,90±1,74

Примітка. * та ** – відмінності достовірні відносно контролю та попередньої групи відповідно.

викликає підвищення сумарного пулу СМП на 49,5 % відносно показників у тварин, які перебували на повноцінному раціоні, що супроводжується вираженим зменшенням інтенсивності екскреції їх з сечею на 65,8 % порівняно з показниками у контролі та на 72,8 % відносно показників екскреції у тварин, яких утримували на малоїодофторній дієті. Поряд з цим встановлено, що додавання NaF до раціону супроводжується перебудовою і індивідуальних фракцій СМП, що проявляється зростанням концентрацій СМП 3, 4, 5 та 6-ї фракцій, причому рівні СМП 3, 4 та 6-ї фракцій перевищують навіть такі в умовах некорегованої малоїодофторної дієти, хоча показники 1-ї та 2-ї нормалізуються (табл. 2).

Звертає на себе увагу той факт, що додавання до малоїодофторного раціону KI протягом 2 міс. викликає достовірне зниження сумарного фонду СМП відносно показників у тварин, яких утримували впродовж 2 міс. на малоїодофторній дієті. Проте це зниження не призводить до нормалізації рівня СМП в сироватці крові. Необхідно підкреслити, що зменшення пулу СМП в сироватці крові даних білих щурів проходить за рахунок не інтенсифікації екскреції з сечею, а зниженого їх утворення або ж швидкої деградації, оскільки виділення через нирки зменшується більше як на 64,7 % відносно такого, що виявлено у щурів, які перебувають на малоїодофторній (некорегованій) дієті, й менше як на 55 %, ніж у контролі.

При цьому додавання KI до малоїодофторного раціону супроводжується зниженням до норми рівнів СМП 1-ї та 2-ї фракцій в сироватці крові, хоча концентрації 3, 4, 5 та 6-ї фракцій перевищують контрольні показники, а рівень 4-ї перевищує і показник в сироватці

крові тварин, яких утримували на некорегованій малоїодофторній дієті.

Додавання NaF та KI до малоїодофторної дієти сприяє нормалізації у формуванні сумарних фондів СМП у сироватці крові та зниженню рівня їх екскреції з сечею. При цьому рівні СМП 1-4 фракцій зменшуються до показників норми і лише концентрації СМП 5-ї та 6-ї фракцій все ж достовірно перевищують ці показники в контролі. Нормалізуюча динаміка рівнів більшості фракцій СМП сироватки крові, ймовірно, сприяє значному зниженню токсичної дії СМП на організм.

Щоденне додавання до малоїодофторної дієти щурів йодованої олії та NaF протягом 2 міс. повністю нівелює негативну її дію, сприяє нормалізації сумарних резервів СМП ($0,150 \pm 0,004$) при показникові їх екскреції $0,438 \pm 0,005$, попереджує розвиток ендогенної інтоксикації за рахунок їх накопичення.

Отже, йод та фтор мають індивідуальний вплив на формування пулу СМП у сироватці крові та рівень їх екскреції з сечею. Нестача кожного з них викликає накопичення їх у крові і зниження рівня їх екскреції з сечею. Додавання до малоїодофторної дієти цих мікроелементів індивідуально не супроводжується нормалізацією фондів СМП в сироватці крові і екскреції їх з сечею. Йодофторна корекція раціону з дефіцитом даних мікроелементів забезпечує суттєву нормалізацію формування СМП-резервів у сироватці крові, причому найбільш повно при використанні комбінації NaF з йодованою олією.

ВИСНОВКИ. Встановлено, що недостатнє надходження в організм мікроелементів йоду та фтору призводить до накопичення в сироватці крові СМП-резервів, що може бути причиною

Таблиця 2 – **Вміст загальної фракції СМП та їх компонентів в сироватці крові і рівень їх екскреції з сечею в умовах йодофторної недостатності та корекції**

№ фракції	Контроль n=12	2 міс. на малоїодофторній дієті n=6	Добавки NaF n=7	Добавки KI n=6	Добавки NaF та KI n=8
1.	127,0±16,0	325,40±1,78*	172,7±17,9**	121,80±8,29**	149,4±23,4**
2.	110,4±12,1	288,1±15,0*	133,30±4,43**	108,00±7,24**	132,7±17,5**
3.	72,4±12,2	134,00±3,64*	171,4±11,9***	159,4±15,3*	109,1±21,6
4.	498,0±19,8	688,7±36,5*	886,8±86,2***	1042,0±54,3***	547,7±66,4
5.	69,90±9,31	133,1±13,7*	147,3±24,1*	148,40±5,11*	155,10±5,08*
6.	128,5±14,0	175,40±7,12*	269,6±16,2***	244,2±34,4*	248,9±30,7*
7.	56,6±9,7	48,50±4,21	45,20±3,80	42,60±7,52	52,80±9,36
Рівень загальної фракції СМП у сироватці крові (од. опт. густини)					
	0,157±0,003	0,213±0,005*	0,229±0,003*	0,190±0,004* **	0,163±0,002 **
Рівень екскреції СМП з сечею (од. опт. густини)					
	0,451±0,007	0,570±0,003*	0,155±0,002* **	0,201±0,003* **	0,350±0,008* **

Примітка.* та ** – відмінності достовірні відносно контролю та показників у тварин, які 2 міс. перебували на малоїодофторній дієті.

розвитку ендогенної інтоксикації і неможливості адаптації організму до цих умов. Додавання до малоїодофторної дієти йодованої олії в комбінації з NaF повністю нівелює розвиток негативних наслідків дефіциту йоду та фтору, сприяє формуванню фізіологічних СМП-резервів в сироватці крові, чим попереджує виникнення ендогенної інтоксикації за їх рахунок.

Одержані результати переконаливо свідчать про наявність тандемного йодофторного

метаболічного зв'язку, вказують на доцільність здійснення контролю за йодофторною забезпеченістю біооб'єктів для попередження розвитку можливих негативних наслідків при їх недостатності або ж дисбалансі, обґрунтовують необхідність проведення постійної йодофторної профілактики та попередження пов'язаних з їх дефіцитом порушень метаболізму, в тому числі й формування СМП-резервів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Габриэлян Н.И., Дмитриев Н.А., Кулаков Г.П. Определение средних молекул у больных в условиях гемодиализной терапии // Тер. арх. – 1983. – 5, № 6. – С. 76-78.

2. Горзов І.П., Потапчук А.М. Екологічні аспекти карієсу зубів та хвороб пародонту. – Ужгород: ВАТ "Патент", 1998. – 225 с.

3. Кандрор В.И. Молекулярно-генетические аспекты тиреоидной патологии // Пробл. эндокринологии. – 2002. – 47, № 7. – С. 3-10.

4. Коваленко О.Н., Лосицька В.М. Вплив раннього хірургічного лікування на рівень інтоксикації у важкообплечених // Шпит. хір. – 1999. – № 4. – С. 43-47.

5. Остерман Л.А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот. – М.: Наука, 1985. – 536 с.

6. Росток Л.М., Туряница І.М., Балінт Л.І. Роль йоду в метаболізмі фтору та їх тандемний регуляторний ефект // Укр. біохім. журн. – 2002. – 74, № 4. – С. 175-176.

7. Ткаченко Е.В. Влияние пептидного комплекса гемоглобина на свертывание крови и фибринолиз // Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2002. – 2, вип. 1. – С. 35-38.

8. Тронько М.Д., Кравченко В.І., Паньків В.І. та ін. Йоддефіцитні захворювання: діагностика, профілактика та лікування (методичні рекомендації). – К., 2003. – 28 с.

9. Туряница И.М., Росток Л.М., Федорович Т.М., Туряница С.М. Среднемолекулярные пептиды сыворотки крови крыс при остром повреждении печени и введении йодированного масла // Укр. биохим. журн. – 1991. – 63, № 2. – С. 102-105.

10. Туряница И.М., Фабри З.Й., Пашенко А.Е. и

др. Йодно-тиреоидный статус организма в условиях природного йодного дефицита. – Ужгород, 1996. – Т. 1: Йод, щитовидная железа и тиреоидная регуляция в норме и при йодной недостаточности. – 145 с.

11. Яцина Ю.Ю., Туряница І.М., Росток Л.М., Барта А.Т. Вплив йодної забезпеченості організму на рівні середньомолекулярних пептидів сироватки крові та їх екскрецію з сечею у потерпілих від опіків // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія "Медицина".- Ужгород, 1998. – Вип. 5. – С. 63-65.

12. Burgi H., Potman L., Podoba J. et al. Thyroid volumes and urinary iodine in Swiss schoolchildren, 17 years after improved prophylaxis of iodine deficiency // Eur. J. Endocrinol. – 1999. – 140. – P. 104-106.

13. Delange F., Benker G., Caron Ph. et al. Thyroid volume and urinary iodine in European schoolchildren: standartization of values for assessment of iodine deficiency // Eur. J. Endocrinol. – 1997. – 136. – P. 180-187.

14. Kopp P., Jamerson J.L. Principles of Molecular Medicine / Ed. J.L. Jamerson. – Totowa, 1998. – P. 459-473.

15. Podoba J. Aktualna epidemiologia, diagnostika a liecba ochoreni stitnej z'l'azy // Interna medicina. – 2002. – № 2. – P. 106-112.

16. Turjanica I., Rostok L., Turjanica S., Popadinec V. A fluor es jod adalekok hatasa a szerveset jodhormonalis haztartasara kiserleti fluor-es jodhianyos allapotban // MTA SSBMTT 1995 evi (4). – Nyiregyhaza, 1995. – S. 33.

17. WHO and ICCIDD. Recommended normative values for thyroid volume in children ages 6-15 years. – Bulletin WHO, 1997. – 75. – P. 95-97.

ВЛИЯНИЕ ЙОДОФТОРНОГО ДЕФИЦИТА НА ФОРМИРОВАНИЕ РЕЗЕРВОВ СРЕДНЕМОЛЕКУЛЯРНЫХ ПЕПТИДОВ У БЕЛЫХ КРЫС И КОРРЕКЦИЯ

Л.М. Ростока
УЖГОРОДСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Изучено влияние малойодофторной диеты и ее коррекции на формирование пула среднемолекулярных пептидов (СМП) в сыворотке крови и уровень их экскреции с мочой у белых крыс. Установлено, что недостаточное поступление в организм микроэлементов йода и фтора приводит к накоплению в сыворотке крови резервов СМП, что служит причиной развития эндогенной интоксикации и невозможности адаптации организма к этим условиям. Применение добавок к малойодофторной диете йодированного масла в комбинации с NaF полностью нивелирует развитие негативных последствий дефицита микроэлементов йода и фтора, способствует формированию физиологических СМП-резервов в сыворотке крови, чем предупреждает возникновение эндогенной интоксикации за их счет.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **среднемолекулярные пептиды, малойодофторная диета.**

THE INFLUENCE OF IODINE-FLUORINE DEFICIENCY ON THE FORMATION OF MEDIUM MOLECULE PEPTIDES RESERVES AND THEIR CORRECTION IN WHITE RATS

L.M. Rostoka
UZHHOROD NATIONAL UNIVERSITY

Summary

The influence of slightly-iodine-fluorine diet and its correction as to the medium-molecule peptides (MMP) pull formation in blood serum and the level of their excretion with the urine in white rats has been studied.

It has been established that the insufficient supply of iodine and fluorine microelements into the organism leads to the increase of MMP reserves in blood serum which may cause the development of endogenic intoxication almost making impossible the organism adaptation to these conditions.

The application of additions of iodinated oil in combination with NaF in the slightly iodine-fluorinated diet nihilates completely the development of negative consequences of iodine and fluorine deficiency, favours the formation of MMP reserves in blood serum, preventing the development of endogenic intoxication.

KEY WORDS: **medium-molecule peptides, slightly-iodine-fluorine diet.**

Отримано 01.12.2003 р.

Адреса для листування: Л.М. Ростока, кафедра біохімії та фармакології з курсом інфекційних хвороб медичного факультету Ужгородського національного університету, пл. Народна, 1, Ужгород, 88000, Україна.

ПОКАЗНИКИ ПРО- ТА АНТИОКСИДНОГО СТАНУ ШЛУНКА ЩУРІВ ЗА УМОВ ДІЇ РАДІАЦІЇ ТА МЕЛАТОНІНУ

Е.В. Олійник, І.Ф. Мещишен, О.В. Плачінта
БУКОВИНСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

Вивчено стан про- й антиоксидних показників шлунка щурів під впливом радіації сумарною осередковою дозою 20 Гр та мелатоніну. Опромінення ділянки епігастрія широкими полями у тварин посилює процеси перекисного окиснення ліпідів та білків і пригнічує показники антиоксидного захисту шлунка. При введенні в шлунок опромінених щурів мелатоніну впродовж 5 днів спостерігався чіткий антиоксидний ефект даного гормону.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: перекисне окиснення ліпідів та білків, мелатонін, опромінення, антиоксиданти.

ВСТУП. Променеву терапію все частіше застосовують для покращення результатів лікування хворих на рак шлунка. Останнім часом у багатьох клініках використовують широкі поля опромінення, що включають шлунок з пухлиною та шляхи регіонарного лімфовідтоку. Разом з тим, при застосуванні таких схем опромінення, особливо в доопераційний період, різко зростає рівень післяопераційних ускладнень, порушується загоєння анастомозів, виникають загальні токсичні прояви використання променевої терапії. Опромінені хворі погано переносять лікування [10, 14]. У розвитку цих ускладнень важливу патогенетичну роль відіграє активація процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та окиснювальної модифікації білків (ОМБ). Як компенсаторна реакція організму на посилення ПОЛ відбувається активація антиоксидних систем організму, особливо глутатіонової системи, з наступним розвитком фази виснаження [4].

У дослідженнях багатьох авторів вказано, що мелатонін (МТ) проявляє виражені антиоксидні властивості [12, 13, 15]. Однак його вплив на стан процесів ПОЛ і ОМБ шлунка при проведенні променевої терапії раку шлунка не вивчали, що і стало метою нашої роботи.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на 32 дорослих безпородних білих

© Е.В. Олійник, І.Ф. Мещишен – д.біол.н., проф., О.В. Плачінта, 2004.

щурах-самцях масою 190-210 г. Тварин утримували у віварії при температурі (20±1) °С (14 год світла, 10 год темряви) на стандартній дієті при вільному доступі до води. Їх поділили на чотири групи (по 8 у кожній): 1-ша – контрольна; 2-га – щури, яким перорально вводили МТ (суспензія препарату "Віта-мелатонін" фірми "Дарниця") у дозі 10 мг/кг; 3-тя – щури, яким опромінювали ділянку епігастрія широкими полями, перорально впродовж чотирьох днів вводили фізіологічний розчин NaCl із розрахунку 1 мл/100 г маси; 4-та – щури, яким на фоні опромінення вводили МТ у дозі 10 мг/кг. Дистанційне гамма-опромінення епігастрія проводили чотири рази на апараті "АГАТ Р1У" з енергією випромінювання 1,25 МеВ (радіоактивний ізотоп Со60) із двох зустрічних полів розмірами 4x4 см у разовій осередковій дозі 5 Гр до сумарної осередкової дози 20 Гр. Відстань від джерела до поверхні складала 75 см. Для опромінення щурів іммобілізували у спеціальних пластикових пеналах, екранування здійснювали свинцевими пластинами, залишивши відкритою тільки ділянку епігастрія розміром 4x4 см. МТ вводили перорально через зонд за 1 год до сеансу опромінення, починаючи за 1 день до початку променевої терапії та протягом усього курсу опромінення (всього п'ять разів).

Евтаназію здійснювали під легким ефірним наркозом, після забою у тварин забирали шлунок, з якого на 50 мМ трис-НСІ буфері

(рН-7,4) готували 5 % гомогенат, центрифугували його, а супернатант використовували для аналізу.

У супернатантах гомогенату шлунка визначали вміст малонового діальдегіду (МДА) [9], ОМБ [5], відновленого глутатіону (GSH) [7], активність каталази (К) [3], глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФД) [2], глутатіонредуктази (ГР) [11]. Концентрацію білка визначали за Лоурі й співавт.

В роботі використовували такі реактиви: трис, НАДФ⁺ і НАДФН ("Reanal", Угорщина). Решта реактивів – вітчизняного виробництва кваліфікацій ч.д.а. і х.ч.

Достовірність результатів дослідження оцінювали шляхом визначення критерію Стюдента (t) з використанням пакета програм "Statistica 5.0".

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Опромінення епігастрія широкими полями активувало процеси ПОЛ у щурів. Рівень одного з кінцевих продуктів ПОЛ – МДА в шлунку у опроміненіх тварин достовірно зростав на 99 % порівняно з групою контролю. Вільні радикали, які виникали в процесі опромінення, стимулювали й окиснення білків, що проявлялось у вірогідному збільшенні рівня ОМБ на 60 % у опроміненіх щурів порівняно з контрольними тваринами.

В основі пошкоджувальної дії вільнорадикальних продуктів ліпопероксидації лежить їх властивість ковалентно модифікувати біополімери, перш за все білки [8].

На відміну від ПОЛ, окиснювальна модифікація білків при окиснювальному стресі (порушення рівноваги між анти- і прооксидною системами в бік переважання генерації активних форм кисню (АФК)) має специфічний характер. При вільнорадикальній патології перш за все відбувається окиснення ліпідів, інтенсивність якого залежить від стану антиоксид-

ного захисту тканин. Білки окиснюються на другому етапі, й у цей процес включаються не лише АФК, але й інші радикальні продукти, зокрема органічні радикали ПОЛ. На глибоких стадіях окиснювального стресу, коли спостерігається виснаження антиоксидного захисту тканини, мають місце більш виражені окиснювальні руйнування білків. Внаслідок особливостей хімічної будови білків, їх функціональної активності, яку вони проявляють у різних тканинах, їх окиснювальна деструкція може бути однією із патогенетичних ланок дії радіації.

Як відомо [6], при опроміненні, крім АФК, особливо гідроксильного радикала, утворюється велика кількість пероксиду водню, який на перших порах є індуктором активності каталази. За нашими даними, активність цього ферменту на 82 % вища порівняно з контрольними тваринами.

Опромінення тканини шлунка призводить до виснаження багатьох компонентів антиоксидного захисту, викликаючи зниження рівня ферментних і неферментних антиоксидантів. Так, рівень GSH у шлунку опроміненіх щурів достовірно знижувався на 34,4 % порівняно з групою контролю. Відомо [4], що GSH є кофактором глутатіонпероксидази і при зниженні його рівня зменшується знешкодження ліпопероксидів.

Активність ГР у шлунку опроміненіх щурів достовірно знижувалася на 26,9 % порівняно з контрольною групою. При зменшенні активності ГР та рівня GSH порушувалось функціонування глутатінової системи [4]. Натомість активність Г-6-ФД у шлунку компенсаторно підвищувалася (на 57,8 %), що можна розглядати як захисну роль, оскільки при цьому зростає синтез НАДФН, який є необхідним компонентом відновлювального циклу глутатіону.

Отже, при опроміненні епігастрія у сумарній дозі 20 Гр спостерігаються посилення ліпо-

Таблиця 1 – Показники про- та антиоксидного стану шлунка щурів за умов дії радіації та мелатоніну (M±m, n=8)

Показник	Контроль	Мелатонін	Опромінення	Опромінення+ мелатонін
Малоновий діальдегід, мкмоль/г тканини	20,30±0,27	20,10±0,17	40,50±0,51*	18,20±0,17*
Окисно-модифіковані білки, E ₃₇₀ (о.о.г./г тканини)	5,13±0,06	4,54±0,09*	8,21±0,12*	5,73±0,12*
Відновлений глутатіон, мкмоль/г тканини	5,76±0,10	6,57±0,10*	3,78±0,13*	5,21±0,06*
Каталаза, нмоль/хв·г тканини	0,50±0,01	0,50±0,01	0,91±0,01*	0,39±0,01*
Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, мкмоль/хв·мг білка	2,44±0,10	2,35±0,08	3,85±0,09*	2,61±0,11
Глутатіонредуктаза, мкмоль/хв·мг білка	1,30±0,09	1,68±0,10*	0,95±0,07*	1,50±0,12

Примітка. * – різниця між контролем і дослідними групами є достовірною (p≤0,05).

пероксидації та ОМБ у тканині шлунка і пригнічення антиоксидного захисту, що може призводити до порушення загоєння анастомозів після променевої терапії.

У щурів, яким перорально вводили МТ, мали місце достовірне зниження рівня ОМБ на 11,5 %, зростання вмісту GSH у шлунку на 14,1 % порівняно з контролем. МТ може стимулювати синтез антиоксидних ферментів, що проявлялося у підвищенні активності ГР у шлунку на 29,2 %. Не виявлено впливу МТ на активність Г-6-ФД, каталази та рівень МДА (табл. 1).

В опромінених тварин, яким вводили МТ, достовірно зменшувався рівень МДА порівняно з тільки опроміненими щурами (на 55,1 %) і контрольною групою (на 10,4 %), що може свідчити про пряму антиоксидну дію МТ. Під впливом МТ у опромінених щурів вірогідно знижувався і рівень ОМБ порівняно з лише опроміненими тваринами (на 30,2 %), залишаючись підвищеним на 11,7 % порівняно з контролем.

Рівень GSH у шлунку опромінених щурів, які отримували МТ, зростав на 37,8 % порівняно з тільки опроміненими тваринами, але залишався нижчим, ніж у групі контролю, на 9,5 %.

Підвищена активність К у шлунку під впливом опромінення суттєво знижувалася на 133,3 % порівняно з опроміненими щурами та на 28,2 % порівняно з контролем. Активність Г-6-ФДГ зменшувалася під впливом МТ на 32,2 %, порівняно з опроміненими тваринами,

до рівня контролю. Знижена активність ГР під впливом опромінення підвищувалася до рівня контрольної групи внаслідок дії МТ.

Під впливом радіації утворюється цілий ряд вільних радикалів, які володіють високою цитотоксичністю [1], ушкоджуючи фосфоліпиди та білки клітинних мембран. При цьому змінюються біологічні властивості білків мембран, що призводить до руйнування клітин. У наших дослідженнях зміни показників МДА й ОМБ можуть бути доказом прооксидної дії радіації.

МТ володіє як прямими, так і непрямими антиоксидними властивостями, що проявляється і в безпосередньому знешкодженні вільних радикалів, ліпопероксидів, пероксиду водню, і в стимуляції ферментів глутатионової системи та інших антиоксидних ензимів (супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, ГР, К) [15].

Отже, проведені нами дослідження та наявні літературні дані дозволяють рекомендувати МТ як засіб реабілітаційного лікування при проведенні променевої терапії.

ВИСНОВКИ. 1. Опромінення ділянки епігастрія широкими полями в сумарній осередковій дозі 20 Гр викликає у шлунку щурів посилення ліпопероксидації, окиснювальної модифікації білків та пригнічення антиоксидного захисту.

2. Введення тваринам мелатоніну впродовж 5 днів на тлі опромінення проявляється чіткою антиоксидною дією даного гормону.

ЛІТЕРАТУРА

1. Давыдов В.В., Божков А.И. Метаболизм эндогенных альдегидов: участие в реализации повреждающего действия оксидативного стресса и его возрастные аспекты // Биомед. химия. – 2003. – № 4. – С. 374-387.
2. Захарьин Ю.Л. Метод определения активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы // Лаб. дело. – 1967. – № 6. – С. 327-330.
3. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
4. Мецишен І.Ф. Глутатионова система організму за умов норми та патології. – Чернівці: БДМА, 1999. – 26 с.

5. Мецишен І.Ф. Метод визначення окиснювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // Бук. мед. вісн. – 1998. – 2, № 1. – С. 156-158.
6. Мецишен І.Ф. Обмін речовин у людини. – Чернівці: БДМА, 1993. – 180 с.
7. Мецишен І.Ф., Петрова І.В. Окисление и восстановление глутатиона в органах крыс при введении этония // Укр. биохим. журн. – 1983. – 55, № 5. – С. 571-573.
8. Мецишен І.Ф., Польовий В.П. Механізм окиснювальної модифікації білків // Бук. мед. вісн. – 1999. – 3, № 1. – С. 196-205.
9. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в

биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.

10. Arcangeli G., Saracino B., Arcangeli G. et al. Postoperative adjuvant chemoradiation in completely resected locally advanced gastric cancer // Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys. – 2002. – **54**, № 4. – P. 1069-1075.

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

12. Karbownik M., Lewinski A., Reiter R.J. Anticarcinogenic actions of melatonin which involve antioxidative processes: comparison with other antioxidants // Int. J. Biochem. Cell Biology. – 2001. – **33**,

№ 3. – P. 735-753.

13. Reiter R.J., Tan D., Osuna C., Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. A review // J. Biomed. Sci. – 2000. – **7**, № 6. – P. 444-458.

14. Smalley S.R., Gunderson L., Tepper J. et al. Gastric surgical adjuvant radiotherapy consensus report: rationale and treatment implementation // Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys. – 2002. – **52**, № 2. – P. 283-293.

15. Vijayalaxmi, Thomas C.R., Reiter R.J. et al. Melatonin: from basic research to cancer treatment clinics // J. Clin. Oncol. – 2002. – **20**, № 10. – P. 2575-2601.

ПОКАЗАТЕЛИ ПРО- И АНТИОКСИДНОГО СОСТОЯНИЯ ЖЕЛУДКА КРЫС В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ РАДИАЦИИ И МЕЛАТОНИНА

Э.В. Олейник, И.Ф. Мещишен, О.В. Плачинта
БУКОВИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

Резюме

Изучено состояние про- и антиоксидных показателей желудка крыс под воздействием радиации суммарной очаговой дозой 20 Гр и мелатонина. Облучение области эпигастрия широкими полями у животных усиливает процессы перекисного окисления липидов и белков и подавляет показатели антиоксидантной защиты желудка. При введении в желудок облученных крыс мелатонина в течение 5 дней наблюдался четкий антиоксидный эффект данного гормона.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пероксидное окисление липидов и белков, мелатонин, облучение, антиоксиданты.

THE INDICES OF PRO- AND ANTIOXIDANT STATE OF RAT STOMACH UNDER CONDITIONS OF RADIATION AND MELATONIN ACTION

E.V. Oliynyk, I.F. Meshchyshen, O.V. Plachinta
BUCOVYNIAN STATE MEDICAL ACADEMY

Summary

The state of pro- and antioxidant indices of rat stomach under conditions of radiation with the total dose 20 Gy and melatonin has been studied. The irradiation of epigastria with wide portals in rats activates the processes of lipid and protein peroxidation and decreases the indices of antioxidant defense. The 5-day introduction of melatonin to the stomach of the irradiated rats resulted in a clear antioxidant effect.

KEY WORDS: lipid and protein peroxidation, melatonin, irradiation, antioxidants.

Отримано 25.01.2004 р.

Адреса для листування: І.Ф. Мещишен, кафедра медичної хімії, Буковинська державна медична академія, Театральна пл., 2, Чернівці, 58000, Україна.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАЦЕТАМОЛУ В ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ

С.О. Васюк, М.Л. Алтунін, В.В. Петренко
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Запропоновано спектрофотометричний спосіб кількісного визначення парацетамолу в субстанції та готових лікарських формах, в основі якого лежить реакція взаємодії препарату з діазолем червоним 2Ж. Спосіб характеризується високою чутливістю та простотою виконання.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: парацетамол, спектрофотометрія, діазоль червоний 2Ж.

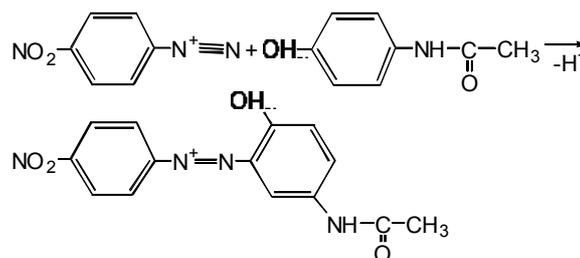
ВСТУП. Парацетамол (п-ацетамінофенол) є одним з популярних знеболювальних та жарознижувальних засобів [5] і входить до складу різних комбінованих препаратів. Згідно з аналітико-нормативною документацією, парацетамол у таблетках та капсулах визначають методом УФ-спектрофотометрії його лужних розчинів при довжині хвилі 257 нм [6, 7]. Даний метод не є специфічним, бо при вказаній довжині хвилі має максимум поглинання велика кількість органічних лікарських сполук, що робить неможливим кількісне визначення парацетамолу у комбінованих лікарських формах. У літературі описано кількісне визначення препарату методами рідинної хроматографії [12, 13, 14, 15, 19, 21, 22], ІЧ-спектрофотометрії [9, 10], УФ-спектрофотометрії [1, 8, 18, 20] та в видимій ділянці спектра на підставі його реакції з 4-хлор-5,7-динітробензофурозаном або похідними [4], 8-гідроксихіноліном в присутності калій йодату після лужного гідролізу [11], залізом (III) або церієм (IV) після кислотного гідролізу [16], гексаціанофератом (III) у середовищі аміачного буфера [17]. Огляд літератури свідчить про доцільність розробки нових, більш чутливих і простих у виконанні способів його аналізу.

Нами раніше був запропонований спосіб спектрофотометричного визначення парацетамолу в лікарських формах на основі реакції азосполучення його з діазолем яскраво-червоним К [3]. Результати попередніх досліджень

показали, що використання як реагенту п-нітродіазобензолу борфториду (діазолу червоного 2Ж) підвищує чутливість визначення препарату в 6 разів. Тому метою нашої роботи стала розробка методів кількісного визначення парацетамолу в лікарських формах з діазолем червоним 2Ж.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі використовували реактиви та розчинники, що відповідали вимогам аналітико-нормативної документації: діазоль червоний 2Ж (ТУ 6-09-07-50) кваліфікації чда, воду дистильовану (Державна Фармакопея України, 1095504), натрій карбонат (Державна Фармакопея України, 1079200), етанол 96 % (Державна Фармакопея України, 1034800).

Експериментально нами було встановлено, що реакція азосполучення парацетамолу з діазолем червоним 2Ж перебігає при кімнатній температурі у водно-етанольному середовищі при додаванні розчину натрій карбонату з утворенням продукту жовто-оранжевого кольору з максимумом світлопоглинання при довжині хвилі 420 нм:



© С.О. Васюк – к.фарм.н., М.Л. Алтунін, В.В. Петренко – д.фарм.н., проф., 2004.

Відкривальний мінімум для препарату, розрахований за загальновідомою методикою [2], становить 0,398 мкг/мл.

Підпорядкування закону світлопоглинання перебуває в межах концентрації парацетамолу 0,3-0,7 мг/100 мл.

Розрахунок відсоткового вмісту препарату для субстанції та вмісту у грамах у готових лікарських формах проводили методом стандарту, використовуючи розчин парацетамолу, субстанція якого відповідає вимогам аналітико-нормативної документації.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. *Методика кількісного визначення парацетамолу в субстанції.* Точну наважку (0,0200-0,0440 г) розчиняють у дистильованій воді у мірній колбі місткістю 250 мл, якщо необхідно, при нагріванні, доводять водою до позначки, ретельно перемішують. 1 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 10 мл насиченого (близько 1 %) свіжовиготовленого водного розчину діазолу червоного 2Ж, 5 мл 1 % розчину натрій карбонату та доводять етанолом до позначки. Паралельно проводять реакцію з 1 мл стандартного розчину парацетамолу, для приготування якого розчиняють 0,0320 г препарату в 250 мл води ($C_0=0,000512$ г/100 мл). Вимірюють оптичну густину досліджуваного та стандартного розчинів на фоні контролю, що не містить досліджуваної речовини, за допомогою спектрофотометра при довжині хвилі 420 нм.

Розрахунок відсоткового вмісту парацетамолу проводять за формулою:

$$C\% = \frac{A \cdot C_0 \cdot 250 \cdot 25}{A_0 \cdot a \cdot l}$$

де A – оптична густина досліджуваного розчину;

A_0 – оптична густина стандартного розчину;

C_0 – концентрація стандартного спектрофотометричного розчину (0,000512 г/100 мл);

a – наважка, г;

l – товщина шару, см.

Результати кількісного визначення парацетамолу в субстанції наведено в таблиці 1.

Методика кількісного визначення парацетамолу в таблетках, капсулах, порошку та сиропі. При кількісному визначенні парацетамолу в таблетках та капсулах точну наважку (наведено в таблиці 2) розтертої таблеткової маси, порошку або сиропу розчиняють у воді у мірній колбі місткістю 250 мл при нагріванні (окрім таблеток "Нимесин плюс"), доводять цим же розчинником до позначки, ретельно перемішують. Одержаний розчин при необхідності фільтрують, перші порції фільтрату відкидають, а з наступних беруть 1 мл і аналізують за методикою кількісного визначення парацетамолу в субстанції. Розрахунок грамового вмісту проводять за формулою:

$$X = \frac{A \cdot C_0 \cdot 250 \cdot 25 \cdot P_{\text{сер.}}}{A_0 \cdot a \cdot l \cdot 100}$$

де $P_{\text{сер.}}$ – середня маса лікарської форми.

Методика кількісного визначення парацетамолу в супозиторіях по 0,33 г. Супозиторій вміщують в склянку, додають 20-30 мл води і нагрівають 3 хв на киплячій водяній бані, охолоджують, обережно зливають через паперовий фільтр у мірну колбу ємністю 250 мл. Операцію повторюють ще 2 рази. Вміст колби доводять водою до позначки, ретельно перемішують. 10 мл отриманого розчину вміщують у мірну колбу на 100 мл, доводять водою до позначки, перемішують і далі роблять так, як у методиці кількісного визначення парацетамолу в субстанції, починаючи зі слів: "До 1 мл одержаного розчину...".

Результати кількісного визначення парацетамолу в лікарських формах представлено в таблиці 2.

Як видно з таблиць, результати кількісного визначення парацетамолу характеризуються досить великою точністю, а методики визначення прості й не вимагають затрат часу. Кількісному визначенню парацетамолу в умовах, наведених вище, не перешкоджають допоміжні речовини, що входять до складу лікарських

Таблиця 1 – **Результати кількісного визначення парацетамолу в субстанції (n=6, P=0,95)**

Наважка, г	A	A_0	C%	Метрологічні характеристики
0,0216	0,382	0,562	100,7	$\bar{x}=100,3$
0,0281	0,497		100,7	$S^2=0,1392$
0,0354	0,623		100,2	$S=0,3731$
0,0376	0,662		100,2	$Sx=0,1523$
0,0414	0,725		99,71	$\Delta x=0,3914$
0,0417	0,735		100,4	$e=0,9560$

Таблиця 2 – Результати кількісного визначення парацетамолу в лікарських формах

Лікарська форма	Наважка	Метрологічні характеристики				
		\bar{X}	$S^2 \cdot 10^{-5}$	$S \cdot 10^{-3}$	$S_x \cdot 10^{-3}$	$x \cdot 10^{-3}$
1. Санідол – 500 мг/0,588 серія 180	0,0235-0,0515 г	0,498	8,94	9,45	3,86	0,9,92
2. Панадол – 500 мг/0,5992 серія 2TF851	0,0240-0,0525 г	0,505	3,38	5,81	2,37	6,09
3. Німесин плюс складу: парацетамол – 500 мг німесулід – 100 мг/0,6909 серія N03	0,0276-0,0605 г	0,497	1,70	4,12	1,68	4,32
4. Циклопар складу: парацетамол – 500 мг дицикломіну гідрохлорид – 20 мг/0,6597 серія TEM 014	0,0263-0,0578 г	0,492	2,82	5,31	2,17	5,57
5. Сироп “Ефералган” – 30 мг/1 мл серія E 7972	1,00 мл	0,0305	0,0240	0,490	0,200	0,514
6. Солпадеін – 500 мг/ 0,6517 серія 1 UD 886	0,0261-0,0571 г	0,498	4,67	6,83	2,79	7,17
7. Капсули парацетамолу – 325 мг/0,385 серія 162001	0,0237-0,0519 г	0,323	3,52	5,93	2,42	6,22
8. Супозиторії парацетамолу – 0,33 г серія 181101	1 шт.	0,336	2,94	5,42	2,21	5,68
9. Парацетамол, кислота ацетилсаліцилова – по 0,25 кофеїну-натрій бензоату – 0,1	0,0480-0,1051 г	0,253	3,79	6,16	2,51	6,46

форм. Визначення парацетамолу в розчинних “Солпадеїні” та “Панадолі Екстра” дає завищені результати.

ВИСНОВКИ. 1. Запропоновано спектрофотометричний спосіб кількісного визначення парацетамолу за реакцією азосполучення з діазолем червоним 2Ж.

2. Опрацьовані методики застосовано для кількісного визначення парацетамолу в субстанції та готових лікарських формах.

3. Запропоновані методики характеризуються високою чутливістю, простотою виконання і можуть бути використані в лабораторіях Державної інспекції за контролем якості ліків та ВТК хіміко-фармацевтичних заводів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Богачик О.Г., Калинюк Т.Г., Грошовий Т.А. Визначення парацетамолу і кислоти мефенамінової у таблетках за допомогою УФ-спектрофотометрії // Фармац. журн. – 1999. – № 5. – С. 67-69.
2. Булатов М.И., Калинин И.П. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа. – 5-е изд. – Л.: Химия, 1986. – 432 с.
3. Васюк С.А. Количественное определение парацетамола в лекарственных формах // Фізіол. активні речовини. – 2000. – № 1 (29). – С. 67-69.
4. Евгеньев М.И., Гармонов С.Ю., Шакиров Л.Ш., Брысаев А.С. Спектрофотометрическое определение производных п-аминобензойной и п-аминосалициловой кислот в лекарственных формах и биологических средах // Хим.-фарм. журн. – 1999. – № 5. – С. 50-54.
5. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. – Харьков: Торсинг, 1998. – 1. – С. 450-451.
6. ФС 42У-127-217-97. Капсулы парацетамолу по 325 мг.
7. ФС 42У-127-218-97. Таблетки парацетамолу по 325 мг.

8. Bautista R.D., Aberasturi F.J., Jimenez A.I., Jimenez F. Simultaneous spectrophotometric determination of drugs in pharmaceutical preparations using multiple linear regression and partial least-squares regression, calibration and prediction methods // Talanta. – 1996. – **43**, № 12. – P. 2107-2115.

9. Boushain Z., Garrigues S., de-la-Guardia M. Flow-injection Fourier-transform infra-red-spectrometric determination of paracetamol in pharmaceuticals // Analyst. – 1996. – **121**, № 5. – P. 635-639.

10. Bouhsain Z., Garrigues S., de-la-Guardia M. Simultaneous stopped-flow determination of paracetamol, acetylsalicylic acid and caffeine in pharmaceutical formulations by Fourier-transform infra-red spectrometry with partial least squares data treatment // Analyst. – 1996. – **121**, № 12. – P. 1935-1938.

11. Bouhsain Z., Garrigues S., Morales-Rubio A., de-la-Guardia M. Flow-injection-spectrophotometric determination of paracetamol in pharmaceuticals by means of online microwave-assisted hydrolysis and reaction with 8-hydroxyquinoline (8-quinolinol) // Anal. Chim. Acta. – 1996. – **330**, № 1. – P. 59-69.

12. Chatterjee S., Singh B.P. A high-performance thin-layer-chromatographic (HPTLC) estimation of antipyrine and paracetamol from plasma // *Indian Drugs*. – 1996. – **33**, № 7. – P. 355-357.

13. Chawla J.L., Sodhi R.A., Sane R.T. Simultaneous determination of chlorzoxazone, paracetamol and diclofenac sodium by different chromatographic techniques // *Indian Drugs*. – 1996. – **33**, № 4. – P. 171-178.

14. Chawla J.L., Sodhi R.A., Sane R.T. Simultaneous HPTLC determination of azatadine maleate and pseudoephedrine hydrochloride with sequential determination of paracetamol // *Indian Drugs*. – 1996. – **33**, № 5. – P. 208-212.

15. De-Orsi D., Gagliardi L., Bolasco A., Tonelli D. Simultaneous determination of triprolidine, pseudoephedrine, paracetamol and dextromethorphan by HPLC // *Chromatographia*. – 1996. – **43**, № 9-10. – P. 496-500.

16. Mohamed F.A., AbdAllah M.A., Shammam S.M. Selective spectrophotometric determination of p-aminophenol and acetaminophen // *Talanta*. – 1997. – **44**, № 1. – P. 61-68.

17. Murillo-Pulgarin J.A., Garcia-Bermejo L.F. Flow-injection stopped-flow spectrofluorimetric kinetic

determination of paracetamol based on its oxidation reaction by hexacyanoferrate (III) // *Anal. Chim. Acta*. – 1996. – **333**, № 1-2. – P. 59-69.

18. Parimoo P., Bharathi A., Padma K. Simultaneous determination of mefenamic acid and paracetamol in drug preparations by UV-absorption spectroscopy // *Indian Drugs*. – 1996. – **33**, № 6. – P. 290-292.

19. Sodhi R.A., Chawla J.L., Sane R.T. Simultaneous determination of paracetamol, ibuprofen and chlorzoxazone by HPLC, HPTLC and GC methods // *Indian Drugs*. – 1996. – **33**, № 6. – P. 280-285.

20. Toral M.I., Richter P., Araya E., Fuentes S. Determination of mefenamic acid and paracetamol by first-derivative spectrophotometry // *Anal. Lett.* – 1996. – **29**, № 15. – P. 2679-2689.

21. Wang Y., Feng G.K., Tang G.Y., Wu H.J. Determination of chlorpheniramine maleate, paracetamol, DL-methylephedrine hydrochloride and caffeine in Relecold capsules by high-performance liquid chromatography // *Sepu*. – 1996. – **14**, № 4. – P. 288-290.

22. Yang Y.F., Wang A.J., Li Y.Q. Determination of pseudoephedrine hydrochloride and paracetamol in their tablets by HPLC // *Yaowu Fenxi Zazhi*. – 1996. – **16**, № 4. – P. 270-271.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПАРАЦЕТАМОЛА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ

С.А. Васюк, М.Л. Алтунин, В.В. Петренко

ЗАПОРЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Предложен спектрофотометрический способ количественного определения парацетамола в субстанции и готовых лекарственных формах, в основе которого лежит реакция взаимодействия препарата с диазолом красным 2Ж. Способ характеризуется высокой чувствительностью и простотой выполнения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: парацетамол, спектрофотометрия, диазол красный 2Ж.

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF PARACETAMOL IN PHARMACEUTICALS

S.O. Vasiuk, M.L. Altunin, V.V. Petrenko

ZAPORIZHZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

The method of quantitative spectrophotometric identification of paracetamol in substance and in pharmaceuticals is worked out. This method is based on the reaction of interaction of preparation with diasol red 2G. This method is highly sensitive and easy executable.

KEY WORDS: paracetamol, spectrophotometria, diasol red 2G.

Отримано 19.11.2003 р.

Адреса для листування: С.О. Васюк, вул. Героїв Сталінграду, 22, кв. 57, Запоріжжя, 69095, Україна.

ВПЛИВ ГОСТРОЇ ГІПОКСІЇ НА ДЕЯКІ ЛАНКИ МЕТАБОЛІЗМУ ГЛЮКОЗИ В ЕРИТРОЦИТАХ БІЛИХ ЩУРІВ

Н.Є. Панас

ЛЬВІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Проводили дослідження активності ферментів енергетичного обміну (гексокінази, 6-фосфофруктокінази, бісфосфогліцеромутази, піруваткінази, лактатдегідрогенази і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази) та концентрацій глюкози, лактату і 2,3-дифосфогліцерату (2,3-DPG) в еритроцитах лабораторних білих щурів, яких протягом 3 год витримували в барокамері на умовній висоті 9000 м над рівнем моря. Встановлено, що за умов гострої гіпоксії, яка розвивається в організмі піддослідних тварин, в еритроцитах збільшується вміст глюкози, але активність процесу фосфорилування цього моносахариду не змінюється. При відсутності істотних змін у концентрації лактату і загальному вмісті 2,3-DPG в еритроцитах вміст зв'язаного з мембранами 2,3-DPG зменшується. Водночас умови гострої гіпоксії зумовлюють пригнічення активності піруваткінази за стабільної активності інших ферментів енергетичного обміну в еритроцитах тварин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіпоксія, еритроцити, метаболізм, глюкоза, гліколіз, лактат, 2,3-дифосфогліцерат.

ВСТУП. З'ясування молекулярних механізмів, що лежать в основі розвитку в організмі гіпоксичних станів, є актуальною проблемою біології і медицини. Як відомо, гіпоксія виникає внаслідок порушення оксигенації тканин та викликає низку адаптаційних реакцій у різних типах клітин [1, 3, 8]. Дослідженням реакції організму на нестачу кисню в атмосферному повітрі присвячена значна кількість експериментальних робіт [1, 5, 9, 13], однак окремі аспекти цієї проблеми залишаються нез'ясованими. Зокрема, недостатньо вивчено особливості адаптаційної відповіді еритроцитів (клітин, що виконують функцію забезпечення тканин киснем) на дію гострої гіпоксії, викликаной підніманням тварин на великі висоти.

Відомо, що існує тісний взаємозв'язок між інтенсивністю процесів метаболізму в еритроцитах, функціональним станом їх мембран та киснетранспортною функцією гемоглобіну. Цей зв'язок опосередковується через продукти енергетичного обміну (лактат, 2,3-дифосфогліцерат, АТФ). Так, специфічний продукт гліколізу еритроцитів 2,3-дифосфогліцерат (2,3-DPG) є одним із основних модуляторів киснетранспортної функції гемоглобіну, а крім

© Н.Є. Панас, 2004.

того, бере участь у регуляції стабільності плазматичних мембран, процесів фосфорилування молекул внутрішньоклітинних білків та активності ферментів гліколізу [14, 16, 17].

Разом із тим, результати окремих експериментальних робіт щодо найбільш чутливих до нестачі кисню ланок метаболізму в еритроцитах суперечливі у зв'язку з неідентичністю застосованих в експериментах моделей гіпоксії [12, 13, 19]. Тому метою роботи було дослідити вплив гострої нестачі кисню на активність ферментів, що визначають інтенсивність перетворення субстратів на окремих стадіях енергетичного обміну, вміст глюкози, лактату і 2,3-DPG в еритроцитах білих щурів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Матеріалом для досліджень була периферична кров, отримана від двох груп лабораторних білих щурів-самців масою 180-200 г (контрольної і дослідної). Для моделювання гострого гіпоксичного стану тварин дослідної групи протягом 3 год витримували в барокамері, де за допомогою вакуумової помпи створювали парціальний тиск кисню (pO_2) 32 Торр, що відповідав висоті 9000 м над рівнем моря (н.р.м.). Кров у щурів контрольної (К) і дослідної (Д) груп отримували після

декапітації, яку здійснювали під легким ефірним наркозом. Виділення еритроцитів та їх гемоліз проводили загальноприйнятими методами [2].

У гемолізатах досліджували активність гексокінази (КФ 2.7.1.1), 6-фосфофруктокінази (КФ 2.7.1.11), бісфосфогліцеромутази (КФ 2.7.5.4), піруваткінази (КФ 2.7.1.40), лактатдегідрогенази (КФ 1.1.1.27) і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (КФ 1.1.1.49) спектрофотометричними методами, які базуються на використанні систем окиснення та відновлення нікотинамідних коферментів [8]. Згідно із загальноприйнятими методами, в еритроцитах визначали концентрації глюкози і лактату, загальний вміст та вміст зв'язаного з мембранами 2,3-DPG [7, 10].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як видно з представлених даних (рис. 1), метаболічна відповідь еритроцитів на гостру нестачу кисню за умов 3-годинного перебування тварин на висоті 9000 м н.р.м. характеризується особливостями порівняно зі змінами, виявленими в клітинах щурів, адаптованих до гіпоксійної гіпоксії [4]. Зокрема, привертає увагу істотне підвищення вмісту глюкози в еритроцитах. Такий ефект може зумовлюватись активацією процесу надходження моносахариду з плазми, де концентрація його збільшується внаслідок активації процесів глікогенолізу в клітинах тканин і органів тварин за умов перебування на висоті [15]. Однак, у зв'язку зі стабільною активністю гексокінази, підвищення вмісту глюкози не супроводжується активацією процесу фосфорилування молекул моносахариду в еритроцитах. Як відомо, в регуляції активності

гексокінази беруть участь різноманітні чинники, в тому числі й сполуки, що входять до складу внутрішньоклітинного середовища. Зокрема, не зв'язані з гемоглобіном та мембранами молекули 2,3-DPG інгібують активність даного ферменту [14, 17, 18]. Як видно з результатів досліджень, після піднімання тварин на висоту 9000 м н.р.м. в еритроцитах різко зменшується вміст зв'язаного з мембраною 2,3-DPG (у клітинах щурів дослідної групи він становить 25,1 %, тоді як у тварин контрольної групи – 38,2 %) (рис. 1). Вірогідно, що збільшення вмісту вільної форми 2,3-DPG обмежує амплітуду змін активності не лише гексокінази, але й бісфосфогліцеромутази – ключового ферменту при утворенні 2,3-DPG [11].

Разом із тим, відсутність істотних змін у процесі фосфорилування глюкози зумовлює стабільність активності ферментів, що каталізують перетворення субстратів у подальших реакціях гліколізу і пентозофосфатним шляхом, – 6-фосфофруктокінази та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. За таких умов значний інтерес викликає зменшення активності піруваткінази в еритроцитах тварин дослідної групи (рис. 1). Встановлений ефект дає підставу вважати, що активність ферменту специфічно пригнічується певними компонентами внутрішньоклітинного середовища, нагромадження яких в еритроцитах активується при гострій нестачі кисню. З іншого боку, при аналізі отриманих результатів необхідно враховувати зміни в гормональному статусі піддослідних тварин. Так, згідно з даними літератури, піднімання на великі висоти призводить до розвитку в організмі стресового стану, що супроводжується інтенсифікацією процесів синтезу і секреції в кров не лише катехоламінів, але й глюкокортикоїдів – інгібіторів ключових ферментів гліколізу, зокрема піруваткінази [6, 9, 20].

З літератури відомо, що за умов помірної гіпоксії в еритроцитах накопичуються продукти гліколізу – лактат, піруват, 2,3-DPG [3, 5]. Дані продукти сприяють зниженню внутрішньоклітинного рН, внаслідок чого спорідненість гемоглобіну з киснем зменшується [17]. Водночас 2,3-DPG алостерично знижує спорідненість гемоглобіну з киснем, зв'язуючись із молекулами цього гемопротейну [14, 17]. Однак із результатів наших попередніх досліджень випливає, що за умов гострої гіпоксії (при підніманні тварин на умовну висоту 9000 м) спорідненість гемоглобіну щурів з киснем, навпаки, зростає. Водночас результати даної роботи свідчать про те, що концентрація лактату та загальний вміст 2,3-DPG в еритроцитах тварин не змінюються

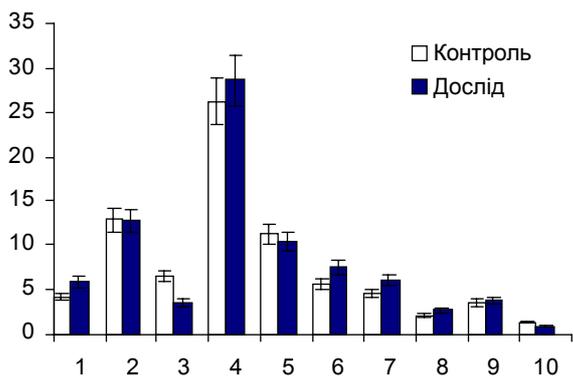


Рис. 1. Активність ферментів і концентрації глюкози, лактату і 2,3-DPG в еритроцитах щурів контрольної і дослідної груп. На горизонтальній осі позначено: 1 – гексокіназа (нмоль NADP/хв на 1 мг білка); 2 – 6-фосфофруктокіназа; 3 – піруваткіназа; 4 – лактатдегідрогеназа (нмоль NADH/хв на 1 мг білка); 5 – глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа (нмоль NADP/хв на 1 мг білка); 6 – бісфосфогліцеромутаза (нмоль NAD/хв на 1 мг білка); 7 – глюкоза; 8 – лактат; 9 – 2,3-DPG; 10 – зв'язаний з мембраною 2,3-DPG (мкмоль/мл еритроцитів).

(рис. 1). Аналіз отриманих даних дає підставу вважати, що за умов гострої гіпоксії відбувається порушення у механізмах, які забезпечують підтримання гомеостазу в еритроцитах та регуляцію киснетранспортної функції гемоглобіну за участю продуктів гліколізу. Таке явище може зумовлюватись розвитком стресу, що, внаслідок активації процесів утворення і виділення в кров гормонів надниркових залоз, спричиняє дисбаланс у співвідношеннях між вмістом інших гормонів – інсуліну, гормонів щитоподібної залози [6, 9, 20].

Вірогідно, що за умов гострої нестачі кисню чутливою до порушень ланкою виявляється функціональна активність плазматичних мембран еритроцитів, зміни в якій, у свою чергу, можуть призводити до змін у складі внутрішнього середовища еритроцитів й у функціях клітинних компонентів. На користь такого припущення певною мірою свідчать результати

щодо стимулювального впливу гострої гіпоксії на вивільнення з мембран 2,3-DPG (рис. 1). У зв'язку з цим, перспективними є подальші дослідження, спрямовані на з'ясування впливу умов гіпоксії на структуру і функції плазматичних мембран еритроцитів та інших клітин системи гемопоєзу.

ВИСНОВКИ. 1. За умов гострої гіпоксії, що розвивається в організмі тварин при підніманні на висоту 9000 м н.р.м., в еритроцитах збільшується вміст глюкози, але активність процесу фосфорилування цього моносахариду, а також концентрація лактату і загальний вміст 2,3-DPG, не змінюються.

2. Умови гострої гіпоксії, зумовленої підніманням тварин на висоту 9000 м н.р.м., характеризуються пригніченням активності піруваткінази в еритроцитах та зменшенням вмісту зв'язаного з мембранами еритроцитів 2,3-DPG.

ЛІТЕРАТУРА

1. Коробов В.М. Механізми адаптації ссавців до гіпоксії за участю дихальних гемопротеїнів: Автореф. дис. ... д-ра біол. наук. – К., 2003. – 29 с.
2. Неменова Ю.М. Методи лабораторних клінічних досліджень. – К.: Вища школа, 1976. – 408 с.
3. Середенко М.М., Дударев В.П., Лановенко И.И. и др. Механизмы развития и компенсации гемической гипоксии. – К.: Наукова думка, 1987. – 200 с.
4. Сухомлинов Б.Ф., Антоняк Г.Л. Кислород-транспортная функция и углеводный обмен в эритроцитах крыс в условиях гипоксической гипоксии под воздействием инсулина // Укр. биохим. журн. – 1988. – **60**. – С. 82-85.
5. Тимочко М.Ф., Єлісеєва О.П., Кобилінська Л.І., Тимочко І.Ф. Метаболічні аспекти формування кисневого гомеостазу в екстремальних станах. – Львів, 1998. – 140 с.
6. Basu M., Sawhney R., Kumar S. et al. Glucocorticoids as prophylaxis against acute mountain sickness // Clin. Endocrinol. – 2002. – **57**, № 6. – P. 761-767.
7. Bergmeyer H.U., Grassl M. Methods of Enzymatic Analysis. – Florida-Basel. Verlag Chemie: Weinheim-Deerfield Beach, 1983. – **3**. – 500 p.
8. Boutilier R.G. Mechanisms of cell survival in hypoxia and hypothermia // J. Exp. Biol. – 2002. – **204**, № 18. – P. 3171-3181.
9. Dimai H.P., Ramschak-Schwarzer S., Leb G. Altitude hypoxia: effects on selected endocrinological parameters // Wien Med. Wochenschr. – 2000. – **150**, № 8-9. – P. 178-181.
10. Dyce B.J., Bessman S. A rapid nonenzymatic

assay for 2,3-DPG in multiple specimens of blood // Arch. Environm. Hlth. – 1973. – **27**, № 2. – P. 112-115.

11. Fujita T., Suzuki K., Tada T. et al. Human erythrocyte diphosphoglycerate mutase: inactivation by glycation in vivo and in vitro // J. Biochem. (Tokyo). – 1998. – **124**, № 6. – P. 1237-1244.

12. Garcia N., Hopkins S.R., Powell F.L. Effects of intermittent hypoxia on the isocapnic hypoxic ventilatory response and erythropoiesis in humans // Respir. Physiol. – 2000. – **123**, № 1-2. – P. 39-49.

13. Gunga H.C., Fries D., Humpeler E. Austrian Moderate Altitude Study (AMAS 2000) – fluid shifts, erythropoiesis, and angiogenesis in patients with metabolic syndrome at moderate altitude (congruent with 1700 m) // Eur. J. Appl. Physiol. – 2003. – **88**, № 6. – P. 497-505.

14. Kister J., Poyart C., Edelstein S.J. An expanded two-state allosteric model for interactions of human hemoglobin A with nonsaturating concentrations of 2,3-diphosphoglycerate // J. Biol. Chem. – 1987. – **262**. – P. 12085-12091.

15. Larsen J.J., Hansen J.M., Olsen N.V. et al. The effect of altitude hypoxia on glucose homeostasis in men // J. Physiol. – 1997. – **504**, Pt. 1. – P. 241-249.

16. Moriyama R., Lombardo C.R., Workman R.F., Low P.S. Regulation of linkages between the erythrocyte membrane and its skeleton by 2,3-diphosphoglycerate // J. Biol. Chem. – 1993. – **268**, № 15. – P. 10990-10996.

17. Mulquiney P.J., Kuchel P.W. Model of the pH-dependence of the concentrations of complexes involving metabolites, haemoglobin and magnesium ions

in the human erythrocyte // Eur. J. Biochem. – 1997. – **245**, № 1. – P. 71-83.

18. Poillon W.N., Kim B.C., Labotka R.J. et al. Antisickling effects of 2,3-diphosphoglycerate depletion // Blood. – 1995. – **85**, № 11. – P.3289-3296.

19. Reily M.P., Chomo M.J., Obata K., Asakura T. Red blood cell membrane and density changes under

ambient and hypoxic conditions in transgenic mice producing human sickle hemoglobin // Exp. Hematol. – 1994. – **22**. – P. 501-509.

20. Sawhney R.C., Malhotra A.S., Singh T. Glucoregulatory hormones in man at high altitude // Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol. – 1991. – **62**, № 4. – P. 286-291.

ВЛИЯНИЕ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ НА НЕКОТОРЫЕ ЗВЕНЬЯ МЕТАБОЛИЗМА ГЛЮКОЗЫ В ЭРИТРОЦИТАХ БЕЛЫХ КРЫС

Н.Е. Панас

ЛЬВОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Проводили исследования активности ферментов энергетического обмена (гексокиназы, 6-фосфофруктокиназы, бисфосфоглицеромутазы, пируваткиназы, лактатдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы), и концентраций глюкозы, лактата и 2,3-дифосфоглицерата (2,3-DPG) в эритроцитах лабораторных белых крыс, которые на протяжении 3 часов находились в барокамере на условной высоте 9000 м над уровнем моря. Установлено, что в условиях острой гипоксии, которая развивается в организме подопытных животных, в эритроцитах увеличивается содержание глюкозы, однако активность процесса фосфорилирования этого моносахарида не изменяется. При отсутствии существенных изменений в концентрации лактата и общем содержании 2,3-DPG в эритроцитах содержание связанного с мембранами 2,3-DPG уменьшается. В то же время условия острой гипоксии обуславливают угнетение активности пируваткиназы при стабильной активности других ферментов энергетического обмена в эритроцитах животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипоксия, эритроциты, метаболизм, глюкоза, гликолиз, лактат, 2,3-дифосфоглицерат.

INFLUENCE OF ACUTE HYPOXIA ON SOME LINKS OF GLUCOSE METABOLISM IN RED BLOOD CELLS OF WHITE RATS

N.E. Panas

LVIV STATE AGRARIAN UNIVERSITY

Summary

The activity of enzymes of energy metabolism (hexokinase, 6-phosphofruktokinase, biphosphoglycerate mutase, pyruvate kinase, lactate dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase), and concentrations of glucose, lactate and 2,3-diphosphoglycerate (2,3-DPG) has been investigated in red blood cells of laboratory white rats which were kept in a pressure chamber on the conditional altitude of 9000 m above sea level. It is established, that in conditions of acute hypoxia, which develops in the organism of experimental animals, the level of glucose in erythrocytes is increased, however, intensity of phosphorylation of carbohydrate, concentration of lactate and total content of 2,3-DPG in red blood cells does not change. At the same time, the content of associated with erythrocyte membrane 2,3-DPG is reduced. The conditions of acute hypoxia cause a reduction of pyruvate kinase activity, while the activity of other enzymes of energy metabolism in animal red blood cells is stable.

KEY WORDS: hypoxia, erythrocytes, metabolism, glucose, glycolysis, lactate, 2,3-diphosphoglycerate.

Отримано 01.12.2003 р.

Адреса для листування: Н.Е. Панас, кафедра агроєкології та біології, Львівський державний аграрний університет, Дубляни, Львів, 79000, Україна.

СТАН ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ ПРИ АНЕМІЇ У ХВОРИХ ІЗ ХРОНІЧНОЮ НИРКОВОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ, ЯКІ ПЕРЕБУВАЛИ НА ПРОГРАМНОМУ ГЕМОДІАЛІЗІ

І.Л. Кучма

ЦЕНТРАЛЬНА МІСЬКА КЛІНІЧНА ЛІКАРНЯ, КИЇВ

Уперше вивчено стан перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та деяких ферментів антиоксидного захисту (АОЗ) – супероксиддисмутази і пероксидази еритроцитів при анемії у хворих із хронічною нирковою недостатністю. Виявлено підвищення вмісту продуктів ПОЛ та зниження рівня ферментів АОЗ, які корелюють із ступенем вираження анемії. Токсична дія агресивних продуктів ПОЛ може бути одним із факторів, що вкорочують тривалість життя еритроцита, і причиною рефрактерності до еритропоетинотерапії.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: анемія при хронічній нирковій недостатності, перекисне окислення ліпідів, ферменти антиоксидантного захисту.

ВСТУП. Щороку в Україні зростає кількість хворих із хронічною нирковою недостатністю (ХНН), які перебувають на програмному гемодіалізі. Одним із факторів, що погіршують якість їх життя, є анемія, в основі якої лежить погіршення продукування хворими нирками еритропоетину. Виходячи з цього, з метою ліквідації анемії найбільш доцільно застосовувати еритропоетин. Важливим для досягнення ефективності еритропоетинотерапії є усунення факторів, що вкорочують тривалість життя еритроцита. Анемія сприяє активації ПОЛ та зниженню рівня ферментів антиперекисного окиснення ліпідів призводить до порушення структури та функції біомембран, їх проникності та руйнування [1, 3]. Зміни еритропоезу можуть бути корегованими лише при нормалізації метаболічних порушень чи при використанні препаратів, що впливають на цей процес [4]. Одним із основних методів, що покращують умови життя еритроцита, є проведення адекватного гемодіалізу. В літературі зустрічаються лише окремі повідомлення про те, що в еритроцитах хворих із ХНН порушений метаболізм глюкози [5], підвищена концентрація малонового діальдегіду та знижений вміст токоферолу ацетату, який являє собою природний антиоксидант. У зв'язку з цим виникає думка про те, що підвищувати ефективність лікування анемії слід в умовах, які впливають

на тривалість життя еритроцита. Саме тому ми поставили собі за мету вивчити стан ліпопероксидації у цих хворих, щоб оцінити вплив її продуктів на перебіг анемії при ХНН.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі використано комплекс клініко-лабораторних досліджень, а саме: гематологічні, фізико-хімічні, клініко-статистичний аналіз.

Клінічне обстеження хворих проводили на базі відділення гемодіалізу Київської центральної клінічної лікарні. Контингент обстежуваних пацієнтів формували шляхом суцільного набору. Для визначення кількісних та якісних гематологічних показників використовували гематологічний аналізатор "COBA Minos STX" фірми "ROCHE" (Австрія). Досліджували: вміст еритроцитів (RBC), гемоглобін (Hb), гематокрит (Htc), середній об'єм еритроцита (MCV), середній вміст гемоглобіну в еритроциті, середню концентрацію гемоглобіну в еритроциті (MCHC). З основних біохімічних показників визначали рівень сечовини, креатинін, загальний білок, білірубін, АСаТ, АЛаТ.

Дослідження стану ПОЛ та антиоксидної системи проводили шляхом визначення рівня дієнових кон'югат, гідропероксид ліпідів, малонового діальдегіду, пероксидазної активності еритроцитів, активності супероксиддисмутази.

Усього обстежено 139 діалітичних хворих із ХНН, 111 з яких мали анемію різного ступеня. Їх вік коливався від 24 до 53 років. У період від

21 до 30 років серед хворих переважали чоловіки, тоді як у віковій групі від 31 до 50 років значно зростала кількість жінок. Можливо, це пов'язано з тим, що дану групу поповнили жінки репродуктивного віку, які при вагітності мали важкий гестоз – преєклампсію. В основі розвитку ХНН лежали хронічний гломерулонефрит, хронічний пієлонефрит, полікістоз нирок, цукровий діабет, гіпертонічна хвороба.

Уремія тривала до 2 років у 9 хворих, до 5 років – у 62, понад 5 років – у 40 пацієнтів.

Ступінь анемії визначали відповідно до міжнародних стандартів: до I ст. віднесли групу хворих, у яких Hb становив 110-91 г/л, до II – 90-80 г/л, до III – менше 80 г/л.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Дослідження діалізних пацієнтів без анемії свідчить про активацію ПОЛ, що проявляється в накопиченні всіх продуктів пероксидації (гідропероксид, дієнових кон'югат, малонового діальдегіду), які є маркерами початкових, проміжних та кінцевих етапів цього процесу. Зокрема, дієнові кон'югати визначались у кількості (21,10±0,83) мкмоль/л, гідропероксиди – (0,206±0,001) у. о., а малоновий діальдегід – (0,049±0,005) мкмоль/л (у здорових, відповідно, (20,2±1,4) мкмоль/л; (0,201±0,001) у. о., (0,048±0,002) мкмоль/л).

Дослідження цих показників у хворих із ХНН, які мали анемію, показало, що зміни у вільнорадикальному окисненні залежать від ступеня анемії.

Вміст дієнових кон'югат зростав у всіх анемічних хворих із ХНН: при I ст. важкості він становив (23,03±0,16) мкмоль/л, при II ст. – (24,60±0,42) у. о., а в разі анемії III ст. – (25,10±0,12) мкмоль/л. Ці зміни достовірні порівняно з показниками у діалізних пацієнтів без анемії (p<0,05). Одночасно із зростанням рівня дієнових кон'югат вірогідно збільшувався вміст іншого проміжного продукту ліпопероксидації – гідропероксидів, вміст яких також залежав від ступеня анемії і дорівнював

0,210±0,001, 0,216±0,003 та 0,226±0,009 у.о. відповідно при I, II і III ст. Достовірно підвищувався вміст не лише початкових та проміжних, але й кінцевих продуктів ліпопероксидації: рівень малонового діальдегіду при анемії I ст. визначався у концентрації (0,050±0,005), при II ст. – (0,052±0,006) і при III ст. – (0,056±0,001) мкмоль/л (p<0,005).

Для нормального функціонування організму необхідна динамічна рівновага між перекисним окисненням і антиоксидною системою захисту, основна роль у якій належить супероксиддисмутази (СОД). Виявлено достовірне зниження активності цього ферменту у хворих з анемією порівняно з діалізними пацієнтами без анемії. Зменшувалося також пероксидазна активність еритроцитів. Виявлено корелятивну залежність між ступенем важкості нефрогенної анемії та активністю СОД. У хворих із ХНН, які не мали анемії, вона достовірно знижувалась порівняно із здоровими ((1,37±0,04) та (1,55±0,06) у. о.; p<0,02). Наявність анемії I ст. призводить до подальшого зменшення активності цього ферменту порівняно з попередньою групою пацієнтів, яка дорівнювала (1,24±0,04) у. о. (p<0,005). Наростання ступеня важкості анемії корелювало з більшим зниженням активності СОД, яка при II ст. анемії вже дорівнювала (1,13±0,02) у.о. (p<0,005). У хворих з анемією III ст. активність ферменту дорівнювала (1,02±0,02) у. о. (p<0,005). Особливо відчутне зниження активності цього ферменту у розрахунку на 1 мг Hb. Залежно від ступеня важкості анемії ці показники були такими: при I ст. – (0,618±0,080) у. о., при II ст. – (0,54±0,06) у. о., а при III ст. – (0,51±0,02) у. о., тоді як у хворих із ХНН без анемії – (0,93±0,04) у. о. Пероксидазна активність еритроцитів при анемії I ст. становила 19,9±0,84, при II ст. – 16,40±0,46, при III ст. – (12,64±0,51), тоді як у пацієнтів без анемії – 21,48±0,44 (p<0,05). У здорових людей цей показник дорівнював 23,44±0,62 (p<0,05). Зміни даних показників відображено в таблиці 1.

Таблиця 1 – Показники ПОЛ та антиоксидної системи захисту при анемії у хворих із ХНН

Контингент пацієнтів	Показники					
	Дієнові кон'югати, мкмоль/л	Гідропероксиди, у. о.	Малоновий діальдегід, мкмоль/л	СОД	СОД у розрахунку на 1 мг Hb	Пероксидаза еритроцитів
Здорові	20,2±1,4	0,201±0,001	0,048±0,002	1,55±0,06	1,214±0,09	23,44±0,62
Хворі із ХНН без анемії	21,10±0,83*	0,206±0,001*	0,049±0,005*	1,37±0,04*	0,930±0,040*	21,48±0,44*
Анемія I ст.	23,03±0,16**	0,210±0,001**	0,050±0,005**	1,24±0,04**	0,618±0,080**	19,90±0,84**
Анемія II ст.	24,60±0,42**	0,216±0,003**	0,052±0,006**	1,13±0,02**	0,540±0,060**	16,40±0,46**
Анемія III ст.	25,10±0,12**	0,226±0,009**	0,056±0,001**	1,02±0,02**	0,510±0,020**	12,64±0,51**

Примітка. * – достовірні зміни, порівняно із здоровими (p<0,05);

** – достовірні зміни порівняно з хворими із ХНН без анемії (p<0,05).

ВИСНОВКИ. Отож, як впливає з результатів досліджень, при анемії, що розвивається у хворих з ХНН, є зміни у перекисному окисненні ліпідів, які полягають у накопиченні початкових, проміжних та кінцевих продуктів ліпопероксидації. Разом з тим, у цих пацієнтів відмічається виражене зниження вмісту деяких ферментів антиоксидантного захисту, зокрема

СОД, та пероксидазної активності еритроцитів. Ці зміни тим більше виражені, чим більший ступінь анемії. Токсична дія продуктів перекисного окиснення призводить до дестабілізації клітинних мембран, зокрема еритроцитів, що вкорочує тривалість їх життя і може бути однією з причин рефрактерності до еритропоетинотерапії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 243 с.
2. Головин А.А., Канвай В.Д. Роль перекисного окисления липидов в патогенезе железодефицитной анемии // Терапевт. арх. – 1991. – **63**, № 12. – С. 85-87.
3. Губский Ю.И. Регуляция перекисного окисле-

- ния липидов в биологических мембранах // Биохимия животных и человека. – 1978. – **2**. – С. 72-83.
4. Рябов С.И., Шостка Г.Д. Эритрон и почка. – Л.: Наука, 1985. – 220 с.
5. Yawata Y., Jacobs H. Abnormal red cell metabolism in patients with chronic uremia nature of the defect and its persistence despite adequate hemodialysis // Blood. – 1975. – **45**. – P. 231-239.

СОСТОЯНИЕ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ ПРИ АНЕМИИ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ, НАХОДЯЩИХСЯ НА ПРОГРАММНОМ ГЕМОДИАЛИЗЕ

И.Л. Кучма

ЦЕНТРАЛЬНАЯ ГОРОДСКАЯ КЛИНИЧЕСКАЯ БОЛЬНИЦА, КИЕВ

Резюме

Впервые изучено состояние перекисного окисления липидов (ПОЛ) и некоторых ферментов антиоксидантной защиты (АОЗ) – супероксиддисмутазы и пероксидазы эритроцитов при анемии у больных с хронической почечной недостаточностью. Обнаружено повышение содержания продуктов ПОЛ и снижение уровня ферментов АОЗ, которые коррелируют со степенью выражения анемии. Токсическое действие агрессивных продуктов ПОЛ может служить одним из факторов, укорачивающих длительность жизни эритроцита, и причиной рефрактерности к эритропоэтинотерапии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: анемия при хронической почечной недостаточности, перекисное окисление липидов, ферменты антиоксидантной защиты.

LIPID PEROXIDATION CONDITION IN ANEMIC PATIENTS WITH CHRONIC RENAL FAILURE WHICH ARE PRESENTED AT PROGRAM HEMODIALYSIS

I.L. Kuchma

CENTRAL CITY CLINICAL HOSPITAL, KYIV

Summary

Peroxidation of lipids and some enzymes of antioxidative protection system such as superoxidodismutase and erythrocytic peroxidase was studied firstly in the anemic patients with chronic renal failure. Increasing of lipid peroxidation products and decreasing of antioxidative protection enzymes according to degree of anemia was established. Toxic effect of aggressive products of lipid peroxidation should decrease the duration of erythrocyte life and may be the cause of firmness to erythropoietin therapy.

KEY WORDS: anemia at chronic renal failure, lipid peroxidation, enzymes of antioxidative protection system.

Отримано 04.02.2004 р.

Адреса для листування: І.Л. Кучма, вул. Курнатовського, 4-а, кв. 124, Київ, 02139, Україна.

ОБМІН КАЛЬЦІЮ ТА ЕФЕКТИВНІСТЬ БРОНХОЛІТИЧНИХ ЗАСОБІВ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНІ ОБСТРУКТИВНІ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ

О.В. Олійник

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

64 пацієнтів з хронічними обструктивними захворюваннями легень (ХОЗЛ) обстежували за допомогою денситометрії, спірометрії, біохімічного визначення концентрацій кальцію в крові, сечі та легеневій тканині. Встановлено, що у хворих на ХОЗЛ із супровідним остеопорозом спостерігаються зниження надходження кальцію в організм з їжею та виведення з сечею, проте значно підвищується його виділення з харкотинням. Більш ефективним в лікуванні хворих на ХОЗЛ без остеопорозу виявився фенотерол, у пацієнтів з остеопорозом – еуфілін.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: хронічні обструктивні захворювання легень, обмін кальцію, еуфілін, фенотерол.

ВСТУП. Однією з функцій кальцію в організмі є участь цього елемента в будові скелета та процесах скорочення мускулатури [5, 8]. Від концентрації кальцію в сироватці крові та легеневій тканині залежить стан гладеньком'язової мускулатури бронхів [9]. Механізми дії основних бронхолітичних засобів, зокрема фенотеролу та еуфіліну, пов'язані з транспортом кальцію в клітинах бронхолегеневої системи [1]. Виникнення дефіциту кальцію залежить від характеру харчування, ступеня фізичної активності особи, супровідних ендокринних захворювань [5].

Порушення кальцієвого обміну у хворих часто проявляються розвитком остеопорозу, або вираженого дефіциту кісткової тканини, зумовленого різними причинами, одна з яких – довготривала гіпоксія [6]. Наслідками та ускладненнями остеопорозу є переломи кісток з тривалим перебуванням хворих у ліжку, можливе приєднання пневмоній, біль у кістках та виражене зниження якості життя [4].

Враховуючи досить високий відсоток захворюваності на остеопороз серед пацієнтів з ХОЗЛ [6], зв'язок між метаболізмом кальцію та станом кісткової тканини у цієї категорії пацієнтів, недостатній рівень дослідження даних питань [3, 10], стан процесів обміну кальцію у хворих на ХОЗЛ, залежно від стану мінеральної

щільності кісткової тканини, потребує подальшого вивчення.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 64 хворих на хронічний обструктивний бронхіт: 43 чоловіки середнім віком 46,4 року та 21 жінку середнім віком 38,2 року (табл. 1). В усіх жінок була збереженою репродуктивна функція. 15 чоловіків з групи обстежених прооперували з приводу супровідної легеневої патології (бронхоектатичної хвороби – 8 осіб, кіст легень – 5, проникних поранень грудної клітки – 2). Усі вони мали хронічний обструктивний бронхіт як супровідне захворювання. У цих осіб під час операцій брали легеневу тканину для біопсії і використовували її з метою визначення концентрації кальцію в легеневій тканині.

Хворим проводили денситометричне обстеження поперекового відділу хребта на двофотонному рентгенівському денситометрі фірми "Lunar", спірометричне дослідження на спірометрі "Spirosoft 3000". За допомогою опитування з використанням спеціальних таблиць оцінювали кількість кальцію у добовій дієті [7]. Вміст кальцію у сироватці крові, сечі й харкотинні визначали апаратом "Мефан 8001" [2]. Вимірюючи добову кількість сечі та харкотиння, визначали величини кальцію, які виділяються із сечею та харкотинням за добу. Для оцінки ефективності бронхолітичних засобів у

© О.В. Олійник, 2004.

групах з різним станом мінеральної щільності кісткової тканини проводили фармакологічні проби з фенотеролом (призначали інгаляційно в дозі 0,2 мг) та еуфіліном (10 мл 2,4 % розчину препарату внутрішньовенно). Обчислювали отримані результати статистичним методом з урахуванням критерію Стьюдента.

Вважали, що у пацієнта мінеральна щільність кісткової тканини нормальна або підвищена, коли масштаб $T_{L_1-L_4}$ денситограми більший від -1,0. Остеопороз діагностували в тому випадку, якщо він менший від -2,0. Серед обстежених хворих було виділено дві групи: пацієнти з нормальною та підвищеною мінеральною щільністю кісткової тканини та такі, які мали остеопороз.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Серед обстежених хворих дефіцит кісткової маси спостерігали у 37 пацієнтів, що становило 57,8 %. Остеопороз діагностовано в 11 (17,2 %) хворих: 8 (18,6 %) чоловіків і 3 (14,2 %) жінок. Остеопенічні зміни було виявлено у 26 (48,1 %) пацієнтів: 15 (34,8 %) чоловіків і 11 (47,8 %) жінок. Остеосклероз фіксували у 9 (14,1 %) хворих: 6 (13,9 %) чоловіків і 3 (14,2 %) жінок. Нормальна мінеральна щільність визначалась у 18 осіб (28,1 %): 14 чоловіків (32,5 %) та 4 жінок (19,0 %). До першої групи з нормальною або дещо підвищеною мінеральною щільністю кісткової тканини ввійшло 27 осіб, до другої групи, де спостерігався остеопороз, – 11.

У результаті проведеного дослідження нами встановлено, що кількість кальцію, що

надходить в організм з їжею, істотно відрізняється в групах, де був остеопороз та де його не спостерігалось, включаючи здорових осіб. Хворі на остеопороз споживали в середньому в 1,62 раза кальцію менше, ніж особи без остеопорозу. Проте, згідно з отриманими даними, незважаючи на відмінність у добовому споживанні кальцію, не спостерігається достовірної різниці між концентраціями кальцію в крові у здорових осіб та хворих обох груп. Концентрація кальцію в харкотинні обох груп хворих була достовірно вищою, ніж у здорових осіб. Те ж можна сказати і про концентрацію кальцію в легеневій тканині: вона була вищою у хворих осіб, причому в групі з остеопорозом ця різниця набувала характеру достовірної.

Під час дослідження концентрацій кальцію в сечі виявлено достовірне зниження концентрації у хворих, які мали остеопороз. Останнє призводило до того, що кількість кальцію, яка виводиться з організму з сечею, у цих хворих була достовірно меншою, в середньому в 1,35 раза, ніж у здорових осіб та хворих без остеопорозу. Встановлено, що у хворих на остеопороз кількість кальцію, яка виділяється з організму з харкотинням, у 2,0 рази вища від відповідної у хворих без остеопорозу. Підраховано, що кількість кальцію, який залишається за добу в організмі хворих без остеопорозу, в 2,1 раза більша від відповідної у пацієнтів з остеопорозом.

Ми спостерігали деякі відмінності в дії бронхолітичних засобів у групах хворих залежно від наявності остеопорозу. Спосте-

Таблиця 1 – Показники обміну кальцію та спірометричного дослідження у хворих на хронічний обструктивний бронхіт залежно від стану мінеральної щільності кісткової тканини

Показник	Здорові особи	Хворі на ХОЗЛ	
		без остеопорозу	з остеопорозом
Концентрація кальцію в крові, ммоль·л ⁻¹	2,25±0,15	2,23±0,22	2,20±0,17
Концентрація кальцію в сечі, ммоль·л ⁻¹	2,45±0,21	2,50±0,20	1,81±0,22*
Концентрація кальцію в легеневій тканині, ммоль·кг ⁻¹	10,1±0,6	12,2±1,1	13,9±1,2*
Концентрація кальцію в харкотинні, ммоль·л ⁻¹	9,0±0,8	12,02±1,0*	14,35±1,0*
Добове виділення кальцію із сечею, мг·д ⁻¹	166,6±14,5	170,0±15,4	157,1±11,6
Добове виділення кальцію з харкотинням, мг·д ⁻¹	2,1±1,0	33,3±3,1*	67,5±4,2* **
Добове споживання кальцію, мг	800,0±100,0	880,5±94,0	520,0±44,3* **
Кількість кальцію, що залишається в організмі за добу	654,0±100,0	677,0±95,0	329,9±35,0* **
Об'єм форсованого видиху за першу секунду (ОФВ1), %	100,0±14,4	50,4±3,7*	36,6±2,9* **
ОФВ1 після інгаляційної проби з фенотеролом, %	112,0±5,6	65,0±5,9*	40,7±4,7* **
ОФВ1 після проби з еуфіліном, %	109,0±6,8	59,0±6,1*	44,5±3,6*
Пікова об'ємна швидкість видиху (ПОШ), %	100,0±11,5	51,3±4,3*	37,7±3,2* **
ПОШ після проби з фенотеролом, %	118,0±7,1	64,5±5,4*	41,5±3,9* **
ПОШ після проби з еуфіліном, %	107,0±6,6	59,5±4,8*	47,3±3,7*

Примітка. * – достовірна зміна показника відносно такого у здорових осіб; ** – достовірна зміна показника відносно такого в групі хворих із нормальною мінеральною щільністю кісткової тканини.

рігалась чітка тенденція, згідно з якою у хворих без остеопорозу більш ефективним, відповідно до отриманих змін об'єму форсованого видиху за першу секунду та пікової об'ємної швидкості видиху, було застосування фенотеролу, а у пацієнтів з остеопорозом сильнішою виявилась дія еуфіліну. Це проявлялось тим, що після проби з фенотеролом спостерігалась достовірна різниця між обома досліджуваними показниками при порівнянні в обох групах. Після проведення проби з еуфіліном різниця вже не була достовірною.

Інтерпретуючи отримані результати, можна твердити, що виникнення остеопорозу у хворих на ХОЗЛ пов'язане з метаболізмом кальцію і залежить від надходження цього елемента з їжею та виведення із сечею та харкотинням. Ймовірно, у хворих на ХОЗЛ підвищується потреба в кальції, який використовується в легеневому метаболізмі. Доказом цього припущення є факт зростання концентрації кальцію в легеневій тканині та харкотинні. Можливо, підвищення виділення кальцію з харкотинням теж відіграє певну роль у розвитку остеопорозу в цієї категорії хворих, оскільки з харкотинням у хворих на ХОЗЛ кальцію виділяється в 15-30 разів більше, ніж у здорових осіб. Зменшення виділення кальцію з сечею в осіб, які споживають малу кількість кальцію з добовим раціоном, можна вважати компенсаторною реакцією організму на недостатнє його надходження.

Відомо, що механізми дії фенотеролу та еуфіліну пов'язані з іонами кальцію, які беруть участь як у процесах накопичення енергії, так і в скороченні гладенької мускулатури бронхів,

яке неможливе без участі іонів цього елемента [1]. Можливо, у хворих на ХОЗЛ буває навпаки, коли надмірна концентрація кальцію в легенях викликає надмірне скорочення гладенької мускулатури, що проявляється бронхоспазмом. Імовірно, різниця в дії бронхолітичних засобів – фенотеролу та еуфіліну – теж залежить від метаболізму кальцію. Можна твердити, що у хворих на ХОЗЛ без остеопорозу більш ефективним є використання, як бронхолітичного засобу, фенотеролу, а у пацієнтів з супровідним остеопорозом – еуфіліну.

ВИСНОВКИ: 1. Важливим фактором розвитку остеопорозу у хворих на ХОЗЛ є недостатнє надходження кальцію в організм з їжею.

2. У хворих на ХОЗЛ із супровідним остеопорозом спостерігається значне зростання виділення кальцію з харкотинням.

3. У ролі компенсаторної реакції для забезпечення збереження кальцію в організмі хворих на ХОЗЛ з супровідним остеопорозом виступає зменшення виділення цього елемента з сечею.

4. Мінеральна щільність кісткової тканини у хворих на ХОЗЛ залежить від співвідношення кількості кальцію, який потрапляє в організм з їжею, та кількості цього елемента, що виводиться з сечею та харкотинням.

5. У хворих на ХОЗЛ спостерігаються зміни в метаболізмі кальцію в легенях, які проявляються зростанням концентрації цього елемента в легеневій тканині та харкотинні.

6. Препаратом вибору для лікування хворих на ХОЗЛ, у яких немає остеопорозу, є фенотерол, а для хворих, які мають супровідний остеопороз, – еуфілін.

ЛІТЕРАТУРА

1. Белоусов Ю.Б., Моисеев Ю.С., Лепяхин В.К. Клиническая фармакология и фармакотерапия. – М.: Универсум Паблшинг, 2000. – 266 с.
2. Инструкция по фотометрическому определению общего кальция в биологических жидкостях. – Днепропетровск: Фелисит диагностика, 2002. – 4 с.
3. Олійник О.В., Олійник Я.В. Особливості патогенезу та інтенсивної терапії бронхіальної астми, резистентної до базисної терапії // Тези І Українського конгресу алергологів. – Київ, 2002. – С. 121.
4. Поворознюк В.В., Подрушняк Е.П., Борисова Є.В., Коштура І.Д. Остеопороз на Україні. – Київ, 1995. – 48 с.
5. Проблеми остеопорозу / Під ред. Л.Я. Ко-

вальчука. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – 444 с.

6. Сміян І.С., Мороз І.М., Косовська В.О. Хронічний бронхіт та остеопенія у дітей // Проблеми остеології. – 2002. – № 2-3. – С. 125-127.

7. Химический состав пищевых продуктов // Кн. 2.: Справочные таблицы содержания аминокислот, жирных кислот, витаминов, макро- и микроэлементов, органических кислот и углеводов / Под ред. А.М. Скурихина. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Агропромиздат, 1987. – 360 с.

8. Katz S.I., Lefland C., Appelbaum-Bauden D. New evidans connecting cardiovascular diseases and osteoporosis // Report of Niams. NHLBI Working Group. – Bethesda, Maryland, Sept. 14-15 1999. – 1999. – P. 2-8.

9. Kawalski M., Polanovisz N. Immunological parameters and respiratory function in patients suffering from atopic bronchial asthma after intravenously treatment with salmon calcitonin // Immunol. Ellt. – 1999. – **10**. – P. 15-19.

10. Oliynyk A.V. Influencing of Berotec on central and pulmonary hemodynamics in patients with chronic obstructive diseases of lungs // Тези VIII Міжнародного конгресу Реабілітація в медицині і імунореабілітація. – Канни, 2002. – С. 241.

ОБМЕН КАЛЬЦИЯ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ БРОНХОЛИТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМИ ОБСТРУКТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЛЕГКИХ

О.В. Олійник

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

64 пациента с хроническими обструктивными заболеваниями легких (ХОЗЛ) обследовали при помощи денситометрии, спирометрии, биохимического определения концентраций кальция в крови, моче и легочной ткани. Установлено, что у больных ХОЗЛ с сопутствующим остеопорозом наблюдаются снижение поступления кальция в организм и выделение его с мочой, значительно повышается его выделение с мокротой. Большую эффективность в лечении больных ХОЗЛ без остеопороза проявлял фенотерол, у пациентов с остеопорозом – эуфиллин.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хронические обструктивные заболевания легких, обмен кальция, фенотерол, эуфиллин.

CALCIUM METABOLISM AND EFFECTIVENESS OF BRONCHOLYTIC MEDICINES IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASES

O.V. Oliynyk

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

There were investigated 64 patients with chronic obstructive pulmonary diseases. The densitometric, spirometric, biochemical investigations of calcium in blood, urine and pulmonary tissue were carried out. It was established that the levels of calcium used with daily ration and excreted with urine in patients with osteoporosis decrease, the quantity of calcium excreted with urine increases. Phenoterolum is more effective in the treatment of patients with chronic obstructive pulmonary diseases without osteoporosis, euphylline – for patients with osteoporosis.

KEY WORDS: chronic obstructive pulmonary diseases, calcium metabolism, euphylline, phenoterolum.

Отримано 04.12.2003 р.

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

УТВОРЕННЯ КАЗОКІНІНІВ У МОДЕЛЬНОМУ ПРОТЕОЛІЗІ α_{S1} -КАЗЕЇНУ

В.Г. Юкало

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І. ПУЛЮЯ

Продукти модельного протеолізу α_{S1} -казеїну одержували при дії протеолітичних ферментів лактококів та молокозсідного препарату – фромази. Низькомолекулярні пептиди виділяли методом гель-фільтрації на сефадексах. Показано, що протеолітичні ферменти окремих штамів лактококів у поєднанні з фромазою здатні звільняти з α_{S1} -казеїну пептиди, які можуть гальмувати активність ангіотензин перетворювального ферменту.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: α_{S1} -казеїн, протеоліз, казокініни, фромаза.

ВСТУП. Доцільність і важливість звільнення біологічно активних пептидів у природних процесах перетравлювання головних білкових компонентів молока – казеїнів підтверджуються великою кількістю цих пептидів та різноманітністю їх функцій, а також здатністю проникати в кров'яне русло організму. В останні роки показано можливість утворення з відносно коротких амінокислотних послідовностей казеїнів декількох десятків пептидів, які проявляють антигіпертензивну дію (казокінінів), мають опіоїдну активність, імуномодуляторні та антиканцерогенні властивості, здатні зв'язувати токсини патогенних мікроорганізмів та стимулювати виділення шлункового соку [6]. Перелічені властивості казеїнів розширюють не тільки поняття біологічної цінності білків молока, а й саме поняття біологічної цінності білків. У сказане також можна бути покласти в основу розуміння складної будови білків казеїнового комплексу (казеїнових міцел), які, крім забезпечення потреб організму в амінокислотах, також виконують важливі регуляторні та захисні функції.

Крім загальнотеоретичного значення вивчення процесу утворення біологічно активних пептидів може бути практично використане у створенні функціональних продуктів, у виробництві заміників жіночого молока для дитячого харчування. Також явище утворення біологічно активних пептидів може бути одним з пояснень відомої з давніх часів дієтичної дії ферментованих молочних продуктів.

© В.Г. Юкало – к.біол.н., 2004.

У зв'язку з цим метою даної роботи є вивчення можливості утворення казокінінів в процесі протеолізу α_{S1} -казеїну ферментами лактококів в поєднанні з молокозсідним препаратом – фромазою.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Гомогенний α_{S1} -казеїн одержували шляхом переосадження в ізоелектричній точці за наявності сечовини. Далі препарат α_{S1} -казеїну очищували методом іонообмінної хроматографії на колонках з ДЕАЕ-целюлозою (ДЕАЕ-52, "Serva" ФРН). Деталі виділення α_{S1} -казеїну описані в статті [4].

В роботі використано 9 штамів лактококів виду *Lactococcus lactis*, а саме І1, І3, І4, І5, І6, І7, І9, І10, І12. Ці штами культивуються на кафедрі харчової біотехнології і хімії Тернопільського державного технічного університету імені Івана Пулюя. Для протеолізу α_{S1} -казеїну використовували молокозсідний препарат – фромазу (Fromase 2200 TL, "Gist Arocades" Франція). Моделювання лізису клітин лактококів проводили з додаванням у живильне середовище яєчного курячого лізоциму ("Sigma" США). Фракційний склад препаратів α_{S1} -казеїну та продуктів його протеолізу аналізували методом електрофорезу на вертикальних пластинках поліакриламідного гелю в лужній буферній системі (рН 7,9). Електрофореграми фіксували і проявляли загальноприйнятими методами [5]. Електрофоретичні буфери та гелі готували, використовуючи реактиви фірми "Reanal" (Угорщина). Виділення пептидів після протеолізу α_{S1} -казеїну здійснювали на хрома-

тографічних колонках (2×70 см, "Reanal", Угорщина), які заповнювали сефадексом G-25 fine ("Pharmacia", Швеція). Концентрацію білків визначали на електрофотометрі СФ-46 ($\lambda=280$ нм), використовуючи встановлені раніше коефіцієнти поглинання (D %/см): 10,0 для α_{S1} -казеїну і 8,2 для загального казеїну. Концентрацію продуктів протеолізу α_{S1} -казеїну після осадження білка трихлороцтовою кислотою визначали за методом [1].

Інгібіторну дію пептидних фракцій на ангіотензинперетворюючий фермент (КФ 3.4.15.1, АПФ) визначали за модифікованим методом [7]. При цьому використовували АПФ з легень кроля ("Sigma" США) та синтетичний субстрат гіпурил-L-гістидил-L-лейцин ("Sigma" США).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Для дослідження сумісної дії ферментів лактококів та фромази використали модельну протеолітичну систему, яка відображала умови протеолізу білків казеїнового комплексу в процесі виробництва твердих сичужних сирів і була описана раніше [3,9]. Відмінність даного дослідження полягає в тому, що після п'яти годин дії протеолітичних ферментів лактококів в систему вводили фромазу. Причому концентрацію фромази збільшували в 10 разів в порівнянні з її концентрацією, яка використовується в реальних процесах зсідання молока. Окремо інкубували α_{S1} -казеїн з фромазою без внесення лактококів. Через 48 годин протеолізу відбирали проби і визначали концентрацію продуктів протеолізу, розчинних в трихлороцтовій кислоті. Результати визначень наведені в таблиці 1. Можна відзначити, що фромаза призводить до збільшення майже в

2 рази концентрації продуктів протеолізу, в порівнянні з пепсином в аналогічних умовах [3]. Після завершення інкубації α_{S1} -казеїну з кожним штамом та фромазою проби центрифугували (9000 g, 10 хвилин). Осад відкидали, а супернатанти висушували ліофільно. З попередньої роботи [3] відомо, що інгібітори АПФ можуть знаходитись у складі низькомолекулярної фракції (до 1500 Да) продуктів протеолізу α_{S1} -казеїну. Із використаних штамів лише у випадку штаму I12 низькомолекулярні продукти протеолізу, одержані після інкубації його з α_{S1} -казеїном, були здатні гальмувати АПФ (табл. 1). Ліофілізовані препарати пептидів, одержані за сумісної дії штамів лактококів та фромази, розчиняли у дистильованій воді та фракціонували методом гель-фільтрації на сефадексі G-25. Типовий хроматографічний профіль продуктів протеолізу α_{S1} -казеїну показано на рис. 1.

Одержані хроматографічні фракції аналізували методом електрофорезу в поліакриламідному гелі. Результати електрофорезу показані на рис. 2.

На електрофореграмі можна побачити крім α_{S1} -казеїну початкові високомолекулярні продукти розщеплення α_{S1} -казеїну ферментами лактококів (рис. 2.2). Перша хроматографічна фракція містить нерозщеплений α_{S1} -казеїн та багато різних пептидів, які не утворюють чітких смужок на електрофореграмі. Можливо це пов'язано із широкою специфічністю протеолітичних ферментів препарату фромази [2]. Низькомолекулярні пептиди другої та третьої хроматографічних фракцій не фіксуються в поліакриламідному гелі (рис. 2.4 і 2.5).

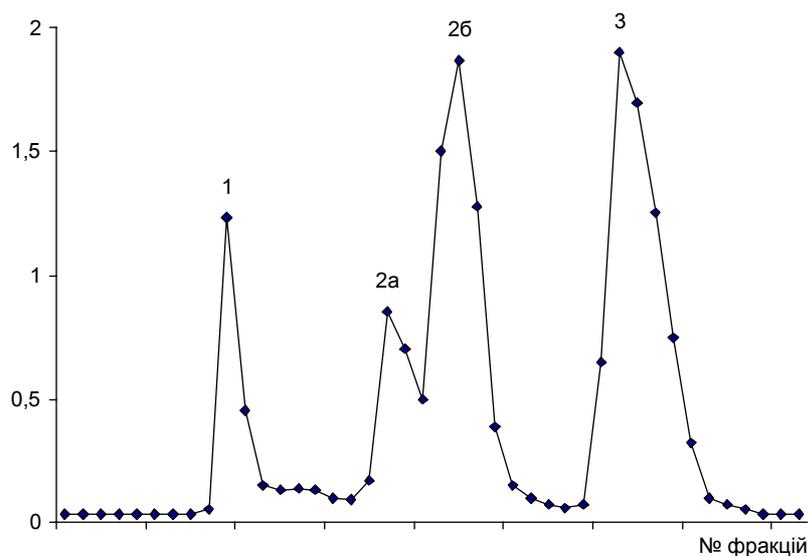


Рис. 1. Хроматограма водорозчинних продуктів протеолізу α_{S1} -казеїну після інкубації зі штамом I12 та фромазою.

Таблиця 1 – Інгібіторна дія пептидів після протеолізу α_{s1} -казеїну з третьої хроматографічної фракції на активність АПФ ($M \pm m$, $n=5$)

Умови досліджу	Концентрація розчинних у ТХО продуктів протеолізу, мкг ТИР+ТРН/мл	Інгібіторний ефект стосовно АПФ, %
α_{s1} -казеїн + фромаза	503±27	5,2
α_{s1} -казеїн + штам I ₁₂	317±23	27,3
α_{s1} -казеїн + штам I ₁₂ + фромаза	847±37	37,9
α_{s1} -казеїн + штам I ₁ + фромаза	803±35	19,4
α_{s1} -казеїн + штам I ₉ + фромаза	622±31	15,2

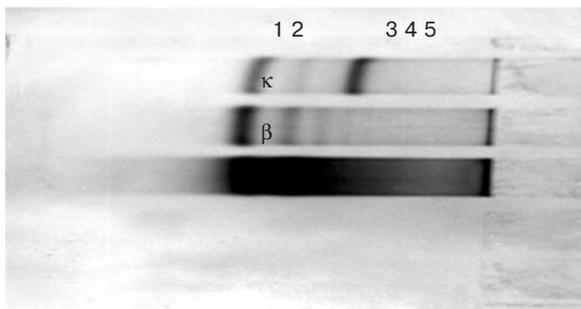


Рис. 2. Електрофореграма загального казеїну (1), α_{s1} -казеїну після п'яти годин інкубації з біомасою лактококів (штам I12) та відповідно хроматографічних фракцій I (3), II (4) і III (5), одержаних після інкубації зі штамом I12 та фромазою.

Результати тестування на здатність гальмувати активність АПФ свідчать, що у продуктах протеолізу α_{s1} -казеїну, які виходять із першою та другою хроматографічними фракціями, казокініни відсутні для всіх штамів в комбінації з фромазою. Пептиди третьої хроматографічної фракції у трьох випадках показали інгібіторний ефект (табл. 1).

Відомі казокініни переважно не складаються більше як з десяти амінокислот [6-8]. Об'єм виходу третьої хроматографічної фракції

свідчить, що молекулярна маса пептидів цієї фракції не перевищує 1500 Да.

Фромаза не відноситься до травних ферментів, тому процес звільнення казокінінів очевидно є випадковим. Він може бути зумовлений наступним:

1. Наявністю в первинній структурі казеїнів, зокрема α_{s1} -казеїну цілого ряду амінокислотних послідовностей, що відповідають послідовності казокінінів.

2. Підвищеною доступністю пептидних зв'язків, розщеплення яких призводить до звільнення казокінінів, а також інших біоактивних пептидів.

3. Така доступність очевидно детермінована еволюційно в просторовій структурі казеїнів.

ВИСНОВКИ. За сумісної дії ферментів окремих штамів протеїназо-позитивних лактококів та молокозсідного препарату фромази на α_{s1} -казеїн в умовах модельної системи, що відображає реальний процес виробництва ферментованого молочного продукту, утворюються казокініни. Допускається, що цей процес зумовлений особливостями первинної та просторової структур казеїнів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Залашко М.В., Образцова Н.В., Савинко Е.И. Исследование протеолитической активности молочнокислых бактерий // Физиология и биохимия микроорганизмов. – Минск: Наука и техника. – 1970. – С. 121-128.
2. Репелиус С. Применение коагулянтов ферментативного происхождения в производстве сыра // Сыроделие. – 1999. – № 3. – С.13-15.
3. Юкало В.Г. Вплив продуктів протеолізу α_{s1} -казеїну на активність ангіотензин-перетворюючого ферменту // Український біохімічний журнал. – 2001. – **73**. – № 5. – С. 28-32.
4. Юкало В.Г. Препаративне виділення гомогенного α_{s1} -казеїну // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. – 2001. – № 4. – С.52-56.
5. Юкало В.Г. Електрофорез білків молока // Медична хімія. – 2000. – **2**, № 4. – С. 79-82.
6. Meisel H., Bockelman W. Bioactive peptides encrypted in milk proteins: proteolytic activation and tropho-functional properties // Antonie van Leeuwenhoek. – 1999. – **76**. – P. 207-215.
7. Nakamura Y., Yamamoto N., Sakai K., Takano T. Antihypertensive effect of sour milk and peptides isolated from it that are inhibitors of angiotensin I – converting enzyme // Journal of Dairy Science. – 1995. – **78**, № 6. – P. 1253-1257.
8. Yamamoto N. Antihypertensive peptide derived from food proteins // Biopolymers. – 1997. – **43**, № 2. – P. 129-134.
9. Yukalo V.G., Luhovyy B.L. The obtaining of bioactive peptides material from products of proteolysis α_{s1} - and β -caseins // Journal of Peptide Science. – 2002. – **8**. – P. 185.

ОБРАЗОВАНИЕ КАЗОКИНИНОВ ПРИ МОДЕЛЬНОМ ПРОТЕОЛИЗЕ α_{s1} -КАЗЕИНА

В.Г. Юкало

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ИВАНА ПУЛЮЯ

Резюме

Продукты модельного протеолиза α_{s1} -казеина получали во время действия протеолитических ферментов лактококков и молокосвертывающего препарата фромазы. Низкомолекулярные пептиды выделяли методом гель-фильтрации на сефадексах. Показано, что протеолитические ферменты отдельных штаммов лактококков совместно с фромозой способны освобождать из α_{s1} -казеина пептиды, которые могут ингибировать активность ангиотензин-превращающего фермента.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: α_{s1} -казеин, протеолиз, казокинины, фромаза.

CASOKININS FORMATION DURING THE MODEL α_{s1} -CASEIN PROTEOLYSIS

V.G. Yukalo

TERNOPIL STATE TECHNICAL UNIVERSITY BY I. PULUY

Summary

The model proteolysis products have been obtained after incubation of α_{s1} -casein with lactococci and milk-setting preparation – fromase. The low molecular weight peptides have been isolated with the help of gel-filtration on sephadex. It was shown, that enzymes of some strains of lactococci with fromase are capable to release peptides from α_{s1} -casein. These peptides can inhibit the activity of angiotensin-transforming enzyme.

KEY WORDS: α_{s1} -casein, proteolysis, casokinins, fromase.

Отримано 25.12.2003 р.

Адреса для листування: В.Г. Юкало, кафедра харчової біотехнології і хімії, Тернопільський державний технічний університет ім. І. Пулюя, вул. Руська, 56, Тернопіль, 46001, Україна.

ВМІСТ АЦЕТИЛХОЛІНУ В МІОКАРДІ СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ
З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ГІПОТИРЕОЗОМ

Н.Я. Потіха

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

У досліджах на статевонезрілих щурах-самцях показано, що в динаміці мерказолілового гіпотиреозу відбувається поступове збільшення вмісту ацетилхоліну в міокарді передсердь. Накопичення парасимпатичного медіатора в цьому відділі серця опосередковує посилену вагусну імпульсацію на міоцити синоатріального вузла і зумовлює появу синусової брадикардії. На вмісті переважно немедіаторного ацетилхоліну шлуночків дефіцит тиреоїдних гормонів істотно не позначається.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіпотиреоз, серце, ацетилхолін.

ВСТУП. Ураження серцево-судинної системи становлять один із головних синдромів у клінічній картині гіпотиреозу. До найхарактерніших проявів гіпотиреоїдного серця належать розлади ритму, перш за все синусова брадикардія, ступінь якої залежить від глибини гіпотиреозу [5]. Виходячи із сучасних уявлень про механізм дії тиреоїдних гормонів [12, 15], патогенез уражень серця при гіпотиреозі можна уявити як поєднання кількох взаємозв'язаних факторів, серед яких важливе значення має опосередкований вплив на міокард через порушення вегетативної регуляції серця. Переважна більшість досліджень у цьому напрямку була зосереджена на з'ясуванні ролі симпатичної нервової системи у розвитку кардіальних симптомів гіпотиреозу. У новонароджених щурів з гіпотиреозом виявлено різке зменшення густини β -адренорецепторів [17]. Порівняльне дослідження адренергічної регуляції лівого шлуночка гіпотиреоїдних тварин віком 21 доба і 84 доби показало [14], що у статевонезрілих щурів втрата β -адренорецепторів супроводжується істотно зниженою чутливістю їх до ізопротеренолу. В дорослих тварин передача сигналів через β -адренорецептори компенсована, незважаючи на зменшення їх кількості.

Роль парасимпатичної іннервації у розладах серцевого ритму при гіпотиреозі вивчено дуже мало. Деякі зрушення в цьому напрямку ста-

лися протягом останніх двох десятиліть після впровадження у клінічну практику методів дослідження варіабельності серцевого ритму. У дітей з гіпотиреозом відбувається зсув вегетативної регуляції серцевого ритму в бік переважання парасимпатичних впливів, який корелює з концентрацією тироксину в крові [2]. У дорослих пацієнтів з маніфестним гіпотиреозом отримано зіставні результати [10, 18]. Проте в літературі наводяться і протилежні дані [6, 11]. У ході нечисленних досліджень на гіпотиреоїдних тваринах не виявлено закономірних змін вагусного тону [8, 13].

Мета даної роботи – з'ясувати, як змінюється вміст парасимпатичного медіатора ацетилхоліну в міокарді передсердь і шлуночків щурів з експериментальним гіпотиреозом і оцінити значення цих змін у патогенезі гіпотиреоїдного серця.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проведено на 70 статевонезрілих білих щурах-самцях лінії Вістар масою 0,08-0,12 кг віком 1,5-2,0 місяці. Гіпотиреоз викликали шляхом щодобового введення мерказолілу ("Здоров'я", Україна) per os у дозі 75 мг/кг маси тіла. Вміст ацетилхоліну в міокарді визначали біологічним методом на прямому м'язі живота жаби [16]. Евтаназію здійснювали шляхом швидкої декапітації. Цифровий матеріал піддавали статистичному аналізу з використанням критерію Стьюдента.

© Н.Я. Потіха, 2004.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У таблиці 1 представлено середні величини, які характеризують вміст ацетилхоліну в міокарді передсердь і шлуночків контрольних щурів і тварин з гіпотиреозом. Як видно з цих даних, розподіл його між окремими відділами серця не рівномірний. Вміст медіатора в передсердях контрольних тварин коливався в досить широкому діапазоні – від 3,96 до 11,32 мкмоль/кг маси міокарда. Крайні величини відрізнялися між собою у 2,86 раза. У міокарді шлуночків середній вміст ацетилхоліну виявився в 1,98 раза нижчим, порівняно з передсердями, при ще більших (у 5,23 раза) індивідуальних коливаннях (1,82-9,52 мкмоль/кг). Виявлена нами нерівномірність розподілу парасимпатичного медіатора у передсердях і шлуночках серця статевонезрілих щурів у цілому узгоджується з даними літератури. У досліджах Л.М. Сас [4] ці величини відрізнялися у 4,2 раза, у досліджах Н.С. Herrlich et al. [9] – в 5,7 раза.

Різний вміст медіатора в передсердях і шлуночках відображає їх неоднакову функціональну роль. Закінчення блукаючого нерва сконцентровані головним чином у передсердях, де вони контактують з кардіоміоцитами синоатріального вузла. Зменшення парасимпатичних закінчень від основи до верхівки серця і збіднення міокарда на ацетилхолін у тому ж напрямку супроводжуються поступовою втратою автоматизму провідної системи [7].

Зіставлення вмісту медіатора в міокарді 1,5-2-місячних щурів, використаних у наших досліджах, з аналогічними величинами, отриманими у дорослих тварин [4], виявило помітну різницю. У передсердях статевонезрілих тварин концентрація ацетилхоліну була нижчою у 3,30 раза, а в шлуночках – в 1,65 раза. Отримані факти узгоджуються з даними літератури [3]. Відомо, що після народження вагусна регуляція серця у щурів виражена дуже слабо. До 12-ї доби в серці тварин взагалі відсутні холінергічні

нервові волокна, які були б зв'язані з атріовентрикулярним вузлом, і лише після 2-тижнів кількість їх різко зростає. Показником цього є збільшення рівня ацетилхоліну в міокарді. Р.А. Абзалов та співавт. [1], які визначали вміст медіатора в міокарді щурів від 21-ї до 100-ї доби постнатального розвитку, виявили зростання його у 3,27 раза.

У щурів з гіпотиреозом спостерігалось поступове збільшення рівня ацетилхоліну в міокарді передсердь. На 5-ту добу годування мерказолілом середній вміст його зріс на 113,70 % порівняно з контролем ($p < 0,001$). Крайні величини перебували в діапазоні 5,50-29,36 мкмоль/кг. Між 5-ю і 10-ю добами експерименту сталося деяке зменшення кількості ацетилхоліну в передсердях, порівняно з попереднім етапом – на 13,73 %, але воно не було достовірним ($p > 0,5$). Порівняно з контролем вміст медіатора залишався вірогідно вищим – на 84,37 % ($p < 0,02$). У тварин з 14-добовим гіпотиреозом збільшення вмісту ацетилхоліну в міокарді передсердь стало ще помітнішим. При коливанні в межах 12,17-37,75 мкмоль/кг середній рівень його зріс на 33,23 % порівняно з 10-добовим етапом дослідження і на 145,64 % порівняно з контролем ($p_1 < 0,001$).

Вміст ацетилхоліну в міокарді шлуночків не виявляв залежності від функціонального стану щитоподібної залози. На 5-ту добу експерименту кількість медіатора навіть дещо зменшилася, порівняно з контролем (на 19,24 %) і перебувала в межах 1,98-4,57 мкмоль/кг. Відмінність між вмістом ацетилхоліну в передсердях і шлуночках стала дуже значною (в середньому в 5,23 раза). На 10-ту добу кількість медіатора в шлуночках знову збільшилася і досягла величини контролю. Співвідношення між ацетилхоліном передсердь і ацетилхоліном шлуночків стало дорівнювати 3,63. На 14-ту добу гіпотиреозу спостерігалось деяке зрос-

Таблиця 1 – Вміст ацетилхоліну в міокарді контрольних і гіпотиреодних щурів ($M \pm m$)

Серії дослідів	Вміст ацетилхоліну, мкмоль/кг	
	передсердя	шлуночки
Контроль	8,83±0,68 (11)	4,47±0,41 (21)
Гіпотиреоз: 5 діб	18,87±2,43 (11) $p_1 < 0,001$	3,61±0,25 (13) $p_1 > 0,1$
10 діб	16,28±2,93 (10) $p_1 < 0,02$ $p_2 > 0,5$	4,49±0,44 (14) $p_1 > 0,5$ $p_2 > 0,1$
14 діб	21,69±2,47 (11) $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,1$	4,61±0,54 (22) $p_1 > 0,5$ $p_2 > 0,5$

- Примітки: 1. p_1 – достовірність різниці порівняно з контролем.
2. p_2 – достовірність різниці порівняно з попереднім етапом досліджень.
3. У дужках – кількість дослідів.

тання вмісту медіатора порівняно з контролем, але воно не досягло значення достовірності. Індивідуальні коливання склали 1,43-10,68 мкмоль/кг, співвідношення між ацетилхоліном передсердь і ацетилхоліном шлуночків – 4,70.

Таким чином, у динаміці експериментального гіпотиреозу відбувається накопичення ацетилхоліну в передсердях, тоді як вміст його в шлуночках залишається без змін. Це призводить до посилення регуляторних впливів блукаючого нерва на синоатріальний вузол і супроводжується негативно-хронотропними ефектами з боку серця. Збільшення вмісту медіатора у передсердях лежить в основі розвитку синусової брадикардії і робить внесок у зміщення вегетативного балансу в бік переважання холінергічного компонента регуляції, що було встановлено шляхом аналізу варіабельності серцевого ритму у хворих з гіпотиреозом. Немедіаторний ацетилхолін шлуночків, пул якого мало зв'язаний з парасимпатичними

нервовими закінченнями, практично не піддається змінам в умовах дефіциту тиреоїдних гормонів.

ВИСНОВКИ. 1. У серці статевонезрілих тварин ацетилхолін розподілений нерівномірно: велика кількість його у передсердях відповідає високій густині залягання холінергічних терміналей у цьому відділі серця.

2. У динаміці експериментального гіпотиреозу вміст ацетилхоліну в передсердях поступово збільшується при незмінному рівні його в шлуночках.

3. Накопичення ацетилхоліну в передсердях гіпотиреоїдних тварин свідчить про посилення вагусної імпульсації і лежить в основі виникнення синусової брадикардії.

4. Відносна незмінність вмісту немедіаторного ацетилхоліну в шлуночках є фактором, що забезпечує функціонування робочого міокарда в економному режимі при дефіциті тиреоїдних гормонів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Абзалов Р.А., Нигматуллина Р.Р., Хурамшин И.Г. Содержание ацетилхолина и активность холинэстераз в тканях у крыс, развивающихся в условиях различных двигательных режимов // Бюлл. Эксперим. биол. и мед. – 1997. – **124**, № 12. – С. 625-628.
2. Бонецкий А.А., Обидина О.К., Султаналиева Р.Б. и др. Исследование вегетативного статуса у детей, проживающих в условиях йодной недостаточности // Пробл. эндокринологии. – 1999. – **45**, № 6. – С. 18-20.
3. Крохина Е.М. Функциональная морфология и гистохимия вегетативной иннервации сердца. – М.: Медицина, 1973. – 231 с.
4. Сас Л.М. Зміни вмісту ацетилхоліну в міокарді щурів з експериментальним тироксиновим токсикозом // Мед. хімія. – 2002. – **4**, № 2. – С. 47-49.
5. Шустов С.Б., Яковлев В.А., Яковлев В.В. Особенности гемодинамики при нарушениях функции щитовидной железы // Клинич. мед. – 2000. – № 8. – С. 61-65.
6. Cacciatori V., Gemma M.L., Bellavere F. et al. Power spectral analysis of the heart rate in hypothyroidism // Eur. J. Endocrinol. – 2000. – **143**, № 3. – P. 327-333.
7. Faucon G., Eureux J.C., Bazaugour R. et al. Gradients cardiaques d'automatisme sur le coeur in situ // J. Physiol. – 1971. – **63**, № 6. – P. 211-214.
8. Foley C.M., McAllister R.M., Hasser E.M. Thyroid status influences baroreflex function and autonomic contributions to arterial pressure and heart rate // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2001. – **280**, № 5. – P. 2061-2068.
9. Herrlich H.C., Raab W., Gige W. Influence of muscular training and of catecholamines on cardiac acetylcholine and cholinesterase // Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. – 1960. – **129**, № 1-2. – P. 201-215.
10. Inukai T., Takanashi K., Kobayashi H. et al. Power spectral analysis of variations in heart rate in patients with hyperthyroidism and hypothyroidism // Horm. Metab. Res. – 1998. – **30**, № 8. – P. 531-535.
11. Kahaly G.J., Kampmann C., Mohr-Kahaly S. Cardiovascular hemodynamics and exercise tolerance in thyroid disease // Thyroid. – 2002. – **12**, № 6. – P. 473-481.
12. Klein M., Pascal V., Aubert V. et al. Heart and thyroid // Ann. Endocrinol. – 1995. – **56**, № 5. – P. 473-486.
13. Kragie L., Kwon G.W., Smiehorowski R. Rat cardiac calcium channels and their relationships with beta-adrenergic and muscarinic receptors in hypothyroidism // Endocr. Res. – 1993. – **19**, № 1. – P. 57-71.
14. Novotny J., Bourova L., Malkova O. et al. G-proteins, beta-adrenoreceptors and beta-adrenergic

responsiveness in immature and adult rat ventricular myocardium: influence of neonatal hypo- and hyperthyroidism // J. Mol. Cell. Cardiol. – 1999. – **31**, № 4. – P. 761-772.

15. Polikar R., Burger A.G., Scherrer U. et al. The thyroid and the heart // Circulation. – 1993. – **87**, № 5. – P. 1435-1441.

16. Vlk J., Tucek S. Distribution of acetylcholine in the auricles of the mammalian heart // Physiol. bohemoslov. – 1961. – **10**, № 1. – P. 65-71.

17. Wibo M., Kilar F., Zheng L. et al. Influence of thyroid status on postnatal maturation of calcium channels, beta-adrenoreceptors and cation transport ATPases in rat ventricular tissue // J. Mol. Cell. Cardiol. – 1995. – **27**, № 8. – P. 1731-1743.

18. Xing H., Shen Y., Chen H. et al. Heart rate variability and its response to thyroxine replacement therapy in patients with hypothyroidism // Chin. Med. J. – 2001. – **114**, № 9. – P. 906-908.

СОДЕРЖАНИЕ АЦЕТИЛХОЛИНА В МИОКАРДЕ ПОЛОВОНЕЗРЕЛЫХ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ГИПОТИРЕОЗОМ

Н.Я. Потиха

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

В опытах на половозрелых крысах-самцах показано, что в динамике мерказолилового гипотиреоза происходит постепенное увеличение содержания ацетилхолина в миокарде предсердий. Накопление парасимпатического медиатора в этом отделе сердца опосредует усиленную вагусную импульсацию на миоциты синоатриального узла и обуславливает появление синусной брадикардии. На содержании преимущественно немедиаторного ацетилхолина желудочков дефицит тиреоидных гормонов не сказывается.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипотиреоз, сердце, ацетилхолин.

ACETYLCHOLINE CONTENTS IN THE MYOCARDIUM OF THE SEXUALLY NONMATURE RATS WITH EXPERIMENTAL HYPOTHYROIDISM

N.Ya. Potikha

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

In the experiments on sexually nonmature rats-males we investigated the gradual increasing of acetylcholine contents in the atrial myocardium in dynamics of experimental mercazolil hypothyroidism. Accumulation of parasympathetic mediator in this part of the heart causes the increasing of vagal impulsion to the synoatrial node myocytes and determines the appearance of sinodal bradycardia. The thyroid hormones deficiency does not essentially affect the contents of mainly nonmediator acetylcholine.

KEY WORDS: hypothyroidism, heart, acetylcholine.

Отримано 22.01.2004 р.

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

ВИВЧЕННЯ ПОРУШЕНЬ МЕТАБОЛІЗМУ ЕСЕНЦІАЛЬНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ ЛІПІДІВ СЛИНИ У ПІДЛІТКІВ

З.Є. Жигулович, І.Ю. Яковлева, Т.С. Брюзгіна
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

Запропоновано газохроматографічне визначення жирнокислотного складу ліпідів слини у підлітків. Встановлено зміну метаболізму ліноленої та арахідонової жирних кислот ліпідах слини, що дозволяє здійснювати оцінку тяжкості метаболічних порушень.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ліпіди, жирні кислоти, слина, метаболізм.

ВСТУП. В останні десятиліття зросла увага дослідників до вивчення властивостей слинного секрету людини. Це пов'язано не тільки з бурхливим розвитком аналітичної техніки, але і з підвищеним інтересом до унікальних властивостей слини і діагностичних можливостей, пов'язаних з нею. Особливості теперішнього часу (соціально-демографічні причини, зростання кількості випадків інфікування через кров СНІДом та іншими небезпечними захворюваннями, розповсюдження наркоманії тощо) роблять необхідним пошук нових неінвазивних та безпечних методів діагностики і контролю за станом пацієнтів. У цьому відношенні аналіз слини являє собою одну з найбільш значних альтернатив аналізу крові, у низці випадків не тільки доповнюючи його, але навіть змінюючи. Медиків приваблюють також простота взяття проб і повна безпечність при цьому для здоров'я пацієнта. Основну увагу дослідники приділяють можливості діагностування патологічних станів різноманітних систем організму [3].

Якщо раніше слину досліджували переважно з боку діагностичної інформації про стан ротової порожнини і стравоходу, то сьогодні інтерес до слинної діагностики значно розширився, що пояснюється як пошуком нових неінвазивних методів оцінки стану пацієнтів, так і збільшенням кількості різноманітних даних про взаємозв'язок функцій слинних залоз з багатьма системами організму.

© З.Є. Жигулович – к.мед.н., І.Ю. Яковлева, Т.С. Брюзгіна – к.техн.н., 2004.

Слина є біологічною рідиною з унікальним набором дослідницьких можливостей, які включають повну неінвазивність, багатократність і майже безмежний за об'ємом забір матеріалу тощо. Клінічних спеціалістів приваблюють нові лабораторні способи аналізу слини з метою отримання різноманітної діагностичної інформації [1-2].

Метою наших досліджень було вивчення порушень метаболізму есенціальних жирних кислот (ЖК) ліпідів слини у підлітків методом газорідинної хроматографії (ГРХ).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Оцінку жирнокислотного складу ліпідів слини здійснювали згідно з методикою [4]. Було обстежено 40 студентів віком 17-19 років. Контрольну групу становили 19 підлітків того ж віку. Об'єктом дослідження був новий неінвазивний об'єкт – слина. Збір матеріалу проводили вранці натще [4].

У спектрі ЖК ліпідів слини було ідентифіковано 7 найбільш інформативних ЖК: С16:0 – пальмітинова, С18:0 – стеаринова, С18:1 – олеїнова, С18:2 – лінолева, С18:3 – ліноленова, С20:3 – ейкозотриєнова, С20:4 – арахідонова.

Піки ЖК ідентифікували шляхом порівняння з часом утримання стандартів ЖК. Кількісну оцінку ЖК ліпідів слини проводили методом нормування площ піків метильованих похідних ЖК і визначення їх вмісту у відсотках. Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію t-Стюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати газохроматографічного аналізу ліпідів слини наведено в таблиці 1. Усіх обстежених було поділено на три групи залежно від рівня арахідонової ЖК.

При порівнюванні результатів газохроматографічного аналізу ліпідів слини можна від-

митити достовірну зміну вмісту олеїнової і лінолевої ЖК для всіх трьох груп, а також рівня поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) порівняно з контролем, що може свідчити про перебудову жирнокислотного спектра ліпідів слини та є інформативним тестом для оцінки метаболізму вищих ЖК.

Таблиця 1 – Показники порушення метаболізму жирних кислот ліпідів слини (у %)

Назва ЖК	Контроль	1-ша група (M±m)	2-га група (M±m)	3-тя група (M±m)
C16:0	35,2±1,9	40,6±2,1	34,1±1,8	29,0±0,9
C18:0	12,6±1,0	10,9±0,3	13,3±0,6	15,5±1,2
C18:1	25,4±1,3	13,3±1,0*	17,5±1,5*	17,2±0,7*
C18:2	17,9±1,5	23,5±1,4*	29,0±0,6*	26,4±1,1*
C18:3	5,0±0,5	1,6±0,3*	0,60±0,08*	0,70±0,08*
C20:3	–	5,4±0,6*	3,4±0,4*	3,7±0,3*
C20:4	3,9±0,4	5,6±0,5*	2,1±0,2*	7,5±0,3*
Сума нас. ЖК	47,8±1,5	51,5±2,1	47,4±1,4	44,5±1,0
Сума ненас. ЖК	52,2±1,5	48,5±2,1	52,6±1,4	55,5±1,0
Сума ПНЖК	26,7±1,3	35,2±0,9*	35,1±1,0*	38,3±1,2*
$K_1 = \frac{C20:4}{C18:3+C20:3}$	0,8	0,9	0,5	1,7

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

При зіставленні отриманих даних з контролем було виявлено, що зміна метаболізму есенціальних ЖК відбувалась за рахунок арахідонової ЖК на фоні незмінного рівня триєнових ЖК (C18:3, C20:3).

Для кількісної оцінки порушення метаболізму есенціальних ЖК ліпідів слини визначали коефіцієнти:

$$K_1 = \frac{C20:4}{C18:3+C20:3}$$

де K_1 характеризує порушення метаболізму есенціальних ЖК.

Як видно з таблиці 1, коефіцієнти контрольної групи і I-III груп обстежуваних осіб достовірно відрізняються між собою.

Так, у 1-й групі рівень ПНЖК достовірно відрізнявся від контролю, вміст есенціальних ЖК, як лінолевої, так і арахідонової, також вірогідно змінився, але коефіцієнт порушення

метаболізму ліпідів, порівняно з контролем, не мав різниці.

У 2-й групі рівень ПНЖК також достовірно відрізнявся від контролю за рахунок вмісту есенціальних ЖК (лінолевої та арахідонової). Коефіцієнт порушення метаболізму ліпідів відрізнявся від контролю і знизився майже у 2 рази.

У 3-й групі рівень ПНЖК також достовірно відрізнявся від контролю, переважно за рахунок лінолевої та арахідонової ЖК. Але, коефіцієнт порушення метаболізму ліпідів був вірогідно підвищений у 2 рази порівняно з контролем.

ВИСНОВОК. Оцінка рівня есенціальних ЖК слини підлітків може бути інформативним тестом при виявленні осіб з порушенням ліпідного метаболізму і чинити обґрунтований терапевтичний вплив.

ЛІТЕРАТУРА

1. Боровський Е.В., Леонтьев В.К. Биология полости рта. – М.: Мед, 1991. – 302 с.
2. Быков В.Л. Гистология и эмбриология органов полости рта человека. С.Пб., 1998. – 247 с.
3. Григорьев И.В., Чиркин А.А. Роль биохимического исследования слюны в диагностике заболе-

ваний // Клинич. лаб. диагностика. – 1998. – № 6. – С. 18-20.

4. Савичук О.В., Брюзгіна Т.С. Стан ліпідного метаболізму у ротовій порожнині при хронічному рецидивуючому афтозному стоматиті у дітей // Доповіді НАН України. – 2003. – № 5. – С. 183-185.

ИЗУЧЕНИЕ НАРУШЕНИЙ МЕТАБОЛИЗМА ЭССЕНЦИАЛЬНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ЛИПИДОВ СЛЮНЫ У ПОДРОСТКОВ

З.Е. Жигулович, И.Ю. Яковлева, Т.С. Брюзгина
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА

Резюме

Предложено газохроматографическое определение жирнокислотного состава липидов слюны у подростков. Установлено изменение метаболизма линолевой и арахидоновой жирных кислот в липидах слюны, что позволяет осуществлять оценку тяжести метаболических нарушений.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **липиды, жирные кислоты, слюна, метаболизм.**

INVESTIGATION OF DISTURBANCES OF METABOLISM OF ESSENTIAL FATTY ACIDS BREACH OF TEENAGER SALIVA LIPIDS

Z.Ye. Zhygulovych, I.Yu. Yakovleva, T.S. Briuzgina
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLETS

Summary

It is proposed a gas chromatographic identification of essential fatty acid composition of teenager saliva lipids. It is found the changing of metabolism of linolic and arachidonic fatty acids in saliva lipids, which makes possible to realize an evaluation of metabolic disturbance severity.

KEY WORDS: **lipids, fatty acids, saliva, metabolism.**

Отримано 05.02.2004 р.

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

ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ ГОМЕОСТАЗУ У ВАГІТНИХ З ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ, ВИКЛИКАНОЮ ЗАГРОЗОЮ ПЕРЕРИВАННЯ НА ТЛІ КУРІННЯ

Т.Я. Москаленко, А.І. Гоженко
ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Зміна екологічної ситуації та забруднення навколишнього середовища призводять до зростання екологічнозалежних захворювань, негативно впливають на перебіг вагітності та народжуваність. У більшості жінок вагітність ускладнюється фетоплацентарною недостатністю, (ФПН), викликану загрозою переривання. Проведено обстеження вагітних I, II та III триместрів з ФПН, викликану загрозою переривання, які не курили, та жінок, які викурювали до вагітності не менше 10 цигарок на день, порівняно зі здоровими вагітними. Показано, що у здорових вагітних та вагітних з ФПН при водно-сольовому навантаженні гомеостатичні системи організму забезпечують відносно стабільний стан основних показників гомеостазу впродовж усієї вагітності. Обмін оксиду азоту зазнає найбільш суттєвих змін, про що свідчить участь NO залежних механізмів у стабілізації гомеостазу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: фетоплацентарна недостатність, куріння, невиношування вагітності.

ВСТУП. Невиношування вагітності є однією з головних акушерських проблем, які пов'язані з перинатальною захворюваністю та смертністю і потребують подальшого вивчення з метою профілактики мимовільних викиднів, пологів до строку та народження недоношених дітей. Недоношені діти роблять свій внесок у показники перинатальної захворюваності і смертності, на них припадає 60-75 % даної патології [1, 3, 4]. Зміна екологічної ситуації і забруднення навколишнього середовища призводять до зростання екологічнозалежних захворювань, негативно впливають на перебіг вагітності та народжуваність [2]. Важливу роль у розвитку фетоплацентарної недостатності (ФПН) відіграють особливості перебігу даної вагітності. У більшості жінок вагітність ускладнюється загрозою переривання.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Було обстежено 49 вагітних I, II та III триместрів з ФПН, викликану загрозою переривання, які не курили, та 42 жінки, які курили до вагітності не менше 10 цигарок на день. Контрольну групу склали 32 здорових вагітних I, II та III триместрів.

© Т.Я. Москаленко – к.мед.н., А.І. Гоженко – д.мед.н., проф., 2004.

Вагітні о 8 год випивали 0,25 % розчин хлориду натрію з розрахунку 0,5 % від маси тіла і впродовж години перебували в сидячому положенні. Через 60 хв жінки активно спорожнювали сечовий міхур і їм проводили забір крові в кількості 5 мл.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Після водно-сольового навантаження у вагітних I триместру з ФПН, викликану загрозою переривання, які не курили, залишалися достовірно стабільними показники осмоляльності та сечової кислоти в плазмі крові (табл. 1). У жінок, які курили до вагітності, показник осмоляльності у I триместрі зменшувався. Спостерігалося незначне зниження вмісту хлору та фосфору у вагітних з ФПН порівняно зі здоровими. Тим часом мало місце достовірне підвищення майже у 1,8 раза рівня нітритів у плазмі крові вагітних з ФПН I триместру порівняно зі здоровими.

У вагітних II триместру, які не курили, з ФПН, викликану загрозою переривання значно зменшувалися всі показники плазми крові порівняно зі здоровою групою (табл. 2). Тим часом у вагітних з ФПН, викликану загрозою переривання на тлі куріння, показники осмо-

ляльності крові та фосфору мали тенденцію до збільшення, проте величини креатиніну, нітриту азоту, кальцію та сечової кислоти у вагітних з ФПН мали тенденцію до зменшення порівняно зі здоровими вагітними II триместру.

Після водно-сольового навантаження у вагітних III триместру з ФПН, викликаного загрозою переривання, які не курили, деякою мірою збільшувалися показники креатиніну та нітриту азоту (табл. 3). Проте у вагітних з ФПН, викликаного загрозою переривання на тлі куріння, достовірно зменшувався показник осмоляльності, тоді як вміст креатиніну та нітритів

азоту збільшувався порівняно зі здоровими вагітними. Решта показників у вагітних з ФПН не відрізнялась від показників контролю.

ВИСНОВКИ. 1. У здорових вагітних та вагітних з ФПН гомеостатичні системи організму забезпечують при водно-сольовому навантаженні відносно стабільний стан основних показників гомеостазу впродовж усієї вагітності.

2. Обмін оксиду азоту, судячи з концентрації нітритів у плазмі крові, зазнає найбільш суттєвих змін, про що свідчить участь NO-залежних механізмів у стабілізації гомеостазу.

Таблиця 1 – Деякі показники плазми крові у вагітних з ФПН, викликаного загрозою переривання на тлі куріння, I триместр, $M \pm m$

Досліджувані показники	Вагітні, які не курили n=17	Вагітні, які курили n=18	Здорові вагітні n=10
Осмоляльність, мосмоль/л	279,30±40,11	274,30±3,39	278,70±34,92
Креатинін, ммоль/л	47,50±8,45	62,30±4,92 p<0,05	50,50±7,08
NO ₂ , мкмоль/л	14,2±2,3 p<0,05	9,7±1,4	7,8±0,9
Глюкоза, ммоль/л	3,70±0,69	3,50±0,85	3,90±0,51
Кальцій, ммоль/л	2,50±0,46	2,10±0,53	2,20±0,42
Сечова кислота, ммоль/л	0,20±0,04	0,20±0,03	0,20±0,05
Хлор, ммоль/л	96,6±13,8 p<0,05	98,70±19,74	98,70±12,34
Фосфор, ммоль/л	1,00±0,22	1,10±0,28	1,20±0,22

Примітка. Тут і в наступних таблицях: n – кількість пацієнтів у групі;
p – показник достовірності відмінностей порівняно зі здоровими жінками.

Таблиця 2 – Деякі показники плазми крові у вагітних з ФПН, викликаного загрозою переривання, які не курили, вагітності, II триместр, $M \pm m$

Досліджувані показники	Вагітні, які не курили n=16	Вагітні, які курили n=12	Здорові вагітні n=12
Осмоляльність, мосмоль/л	272,80±4,02	279,30±41,08	275,70±36,13
Креатинін, ммоль/л	55,2±6,1	50,50±8,21	56,40±7,79
NO ₂ , мкмоль/л	7,3±1,7 p<0,05	9,40±2,2	11,7±1,6
Глюкоза, ммоль/л	3,70±0,66	3,90±0,47	3,80±0,58
Кальцій, ммоль/л	2,00±0,43	2,10±0,37	2,4±0,2
Сечова кислота, ммоль/л	0,20±0,05 p<0,05	0,20±0,04 p<0,05	1,30±0,04
Фосфор, ммоль/л	1,30±0,28	1,10±0,22	0,90±0,17

Таблиця 3 – Деякі показники плазми крові у вагітних з ФПН, викликаного загрозою переривання, які не курили, III триместр, $M \pm m$

Досліджувані показники	Вагітні, які не курили n=16	Вагітні, які курили n=12	Здорові вагітні n=10
Осмоляльність, мосмоль/л	275,00±2,34	249,30±31,27	274,20±50,18
Креатинін, ммоль/л	47,30±4,35	49,80±6,02	44,80±8,32
NO ₂ , мкмоль/л	8,8±2,1	13,2±1,6 p<0,05	8,6±1,9
Глюкоза, ммоль/л	3,70±0,32	4,00±0,65	3,70±0,68
Кальцій, ммоль/л	2,2±0,5	2,10±0,34	1,90±0,35
Сечова кислота, ммоль/л	0,20±0,03 p<0,05	0,30±0,06	0,30±0,04
Хлор, ммоль/л	97,90±16,31	101,70±14,95	101,90±12,73
Фосфор, ммоль/л	0,90±0,22	1,00±0,19	1,00±0,21

ЛІТЕРАТУРА

1. Булиенко С.Д., Степанковская Г.К., Фогел П.И. Недонашивание и перенашивание беременности. – К.: Здоров'я, 1982. – 180 с.
2. Венцківський Б.М. Вплив шкідливих факторів зовнішнього середовища та промисловості на жіночий організм, плід та новонародженого // Екологія та репродукція. – Одеса, 1992. – С. 4-5.
3. Венцовський Б.М., Венцовська І.Б. Організаційні та медичні аспекти проблеми невиношування вагітності // Невиношування вагітності: Зб. наук. пр. – К., 1997. – С. 45-48.
4. Петрикова Т.Ю. Ведение беременности и родов высокого риска. – М.: АО Релакс, 1994. – С. 36-70.

НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГОМЕОСТАЗА У БЕРЕМЕННЫХ С ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ, ВЫЗВАННОЙ УГРОЗОЙ ПРЕРЫВАНИЯ НА ФОНЕ КУРЕНИЯ

Т.Я. Москаленко, А.И. Гоженко
ОДЕССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Изменение экологической ситуации и загрязнение окружающей среды приводят к возрастанию экологическизависимых заболеваний, негативно влияют на течение беременности и рождаемость. У большинства женщин беременность осложняется фетоплацентарной недостаточностью (ФПН), вызванной угрозой прерывания. Проведено обследование беременных I, II и III триместров с ФПН, вызванной угрозой прерывания, которые не курили, и женщин, которые выкуривали до беременности не менее 10 папирос в день, в сравнении со здоровыми беременными. Показано, что у здоровых беременных и беременных с ФПН при водно-солевой нагрузке гомеостатические системы организма обеспечивают относительно стабильное состояние основных показателей гомеостаза в течении всей беременности. Обмен оксида азота подвергается наиболее существенным изменениям, о чем свидетельствует участие NO-зависимых механизмов в стабилизации гомеостаза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фетоплацентарная недостаточность, курение, невынашивание беременности.

SOME HOMEOSTASIS PARAMETERS IN PREGNANT WOMEN WITH FETOPLACENTAL INSUFFICIENCY, INDUCED BY THE THREAT OF PREGNANCY INTERRUPTION AGAINST A BACKGROUND OF SMOKING

T.Ya. Moskalenko, A.I. Gozhenko
ODESA STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

Change of ecological situation and environmental contamination result in increase the number of ecologically dependent diseases, which negatively influence on pregnancy current and birth rate. In most cases the pregnancy is complicated by fetoplacental insufficiency, induced by the threat of pregnancy interruption. Inspection of pregnant women of the I, II and III trimesters with fetoplacental insufficiency induced by the threat of pregnancy interruption, which did not smoke and smoked up to pregnancy not less than 10 cigarettes a day in comparison with healthy pregnant women. It is shown that homeostasis systems of an organism provide rather stable condition of basic homeostasis parameters in hydro-salt loading at healthy pregnant women and pregnant with fetoplacental insufficiency during the pregnancy. The exchange of nitric oxide has the most essential changes in stabilization of homeostasis.

KEY WORDS: fetoplacental insufficiency, smoking, noncarrying of pregnancy.

Отримано 02.02.2004 р.

Адреса для листування: А.І. Гоженко, кафедра загальної та клінічної патофізіології Одеського державного медичного університету, пров. Валіховський, 2, Одеса, 65026, Україна.

УДК 615.218:54.062:542.61

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА МЕТОДІВ ВИДІЛЕННЯ ЛОРАТАДИНУ
З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ

О.Б. Поляк, В.С. Бондар

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Вивчено умови ізолювання лоратадину з біологічного матеріалу за методами О.О. Васильєвої, Стаса-Отто, В.П. Крамаренка. Показано, що метод О.О. Васильєвої дозволяє виділити приблизно 45 % препарату з модельних сумішей лоратадину з печінкою, метод Стаса-Отто – 10 %, а метод В.П. Крамаренка – 40 %. Запропоновано ефективну методику ізолювання лоратадину за допомогою хлороформу, яка дає можливість виділити з біологічного матеріалу до 70 % препарату.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: лоратадин, біологічний матеріал, ізолювання, очистка, виявлення, кількісне визначення.

ВСТУП. Лоратадин (лорфаст, флонізан, еролін, кларитин, агістам, кларотадин) – новий високоефективний антигістамінний препарат II покоління з пролонгованим ефектом, механізм дії якого пов'язаний з вибіркоким блокуванням H_1 -гістамінових рецепторів. За хімічною структурою лоратадин – етиловий ефір 4-(8-хлор-5,6 дигідро-11Н-бензо[5,6]циклогепта[1,2-b]піридин-11-іліден)-1-піперидинкарбонової кислоти [8].

Препарат не проникає через гематоенцефалічний бар'єр і не проявляє вираженої холінолітичної активності, тому він широко використовується в медичній практиці для лікування різної алергічної патології [1, 4, 5, 12]. Проте в літературі описано неодноразові випадки отруєнь лоратадином [9-11, 13-15]. Зазначені обставини пояснюють підвищений інтерес до хіміко-токсикологічних досліджень препарату.

У зв'язку з відсутністю в літературі відомостей стосовно систематичного вивчення методів виділення лоратадину з біологічного матеріалу, ми поставили за мету вирішити в даній роботі це питання.

Нами вивчена можливість виділення лоратадину з біологічного матеріалу за загальноприйнятими у хіміко-токсикологічному аналізі методами: О.О. Васильєвої (ізолювання водою, підкисленою кислотою оксалатною), Стаса-Отто (ізолювання етанолом, підкисленим

© О.Б. Поляк, В.С. Бондар – д. фарм.н., проф., 2004.

кислотою оксалатною), В.П. Крамаренка (ізолювання водою, підкисленою кислотою сульфатною) [6], а також можливість розробки більш експресної та ефективнішої методики ізолювання препарату.

Одним із важливих чинників, які впливають на процес ізолювання, є ступінь екстракції препарату з водних розчинів органічними розчинниками. Попередньо ми досліджували ступінь екстракції лоратадину з водних розчинів залежно від рН середовища і природи органічних розчинників, що застосовуються в хіміко-токсикологічному аналізі. Було встановлено, що найпридатнішим розчинником для виділення лоратадину з водних розчинів є хлороформ, який при рН 5,0-6,0 екстрагує приблизно 88 % препарату. Гексан не екстрагує лоратадин з водних розчинів, які мають рН 2, тому його ми використовували для очищення водних витяжок, що містили препарат.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для ізолювання лоратадину з біологічного матеріалу ми застосували модельні суміші печінки трупа людини, яка загинула від травми, що не зазнала гнильних змін, з цим препаратом.

До 10 г подрібненої печінки додавали 1,0 мл розчину лоратадину в 0,1 М кислоті хлоридній, що містив 2000 мкг препарату, ретельно перемішували і залишали на 24 год. Паралельно ставили контрольний дослід.

Ізолювання лоратадину з біологічного матеріалу проводили за допомогою методів О.О. Васильєвої, Стаса-Отто, В.П. Крамаренка, а також розробленої нами методики елюювання препарату біологічного матеріалу хлороформом. Новизна підходу полягала в зменшенні наважок біологічного матеріалу до 10 г. Відповідно, було зменшено й об'єми розчинників. При використанні зазначених методів екстракцію лоратадину з підкисленої водної витяжки проводили хлороформом 3 рази по 10 мл.

У літературі [2, 3] описано високоефективний метод ізолювання органічних речовин основного характеру за допомогою хлороформу. У зв'язку з цим, ми вивчили можливість використання цього методу стосовно лоратадину.

Методика ізолювання лоратадину з біологічного матеріалу за допомогою хлороформу. 10 г печінки, що містить препарат, розтирали у ступці з 30 г безводного натрію сульфату до утворення сипучої маси (якщо утворювалася волога маса, її залишали на 2 год для висихання на повітрі). Сипучу масу переносили у скляну колонку діаметром 20 мм, у вузьку нижню частину якої перед заповненням поміщали невеликий ватний тампон. Сипучу масу ущільнювали легким постукуванням по колонці. Через відкритий кран у колонку за допомогою гумової груші засмоктували хлороформ до утворення "дзеркала" над поверхнею товщиною до 2 см. Кран закривали і над колонкою встановлювали ділильну лійку з 100 мл хлороформу. Хлороформ пропускали через колонку зі швидкістю 60-80 крапель за 1 хв, утримуючи "дзеркало" над біологічним матеріалом. За цих умов утворюється до 100 мл хлороформної витяжки. Паралельно проводили контрольний дослід.

Для виявлення лоратадину у витяжках з біологічного матеріалу використовували метод хроматографії в тонких шарах сорбенту на пластинках "Sorbfil" (силікагель СТХ-1А, тип підкладки ПЕТФ, розмір пластинок – 10x10 см) та УФ-спектрофотометрію.

Хроматографічні пластинки попередньо чистили ацетоном, висушували й активували в сушильній шафі при 100 °С протягом 30 хв. На лінію старту скляними капілярами наносили три проби: стандартний розчин лоратадину в хлороформі; хлороформну витяжку з біологічного матеріалу з препаратом та хлороформну витяжку з біоматеріалу, отриману в контрольному досліді.

Об'єм нанесених проб відповідав 0,5 г біологічного матеріалу при ізолюванні за методом О.О. Васильєвої або Стаса-Отто та 0,2 г при

ізолюванні за методом В.П. Крамаренка чи хлороформом.

Системою розчинників був хлороформ. Пластинки піддавали елююванню в камері об'ємом 1000 см³ та зі шляхом пробігу системи розчинників 7 см і висушували на повітрі. Для проявлення плям використовували пари йоду та реактив Драгендорфа, модифікований за Муньє.

Значення R_f лоратадину для всіх методів ізолювання складали 0,48-0,52. У парах йоду плями препарату забарвлювали в жовто-коричневий колір, а під дією реактиву Драгендорфа – в оранжевий. Зазначені проявники виявляють і плями співекстрактивних речовин. За даних умов хроматографування ми спостерігали задовільний розподіл плям лоратадину та співекстрактивних речовин (вони були нижче та вище плям препарату).

Кількісне визначення лоратадину проводили за допомогою розроблених нами методів УФ-спектрофотометрії та екстракційної фотометрії з використанням кислотного індикатора метилового оранжевого.

Попередньо нами було встановлено, що співекстрактивні речовини, які містяться у витяжках з біологічного матеріалу, отриманих описаними методами ізолювання, заважають виявленню лоратадину в етанолі методом УФ-спектрофотометрії. У зв'язку з цим, проби витяжок піддавали додатковому очищенню методом тонкошарової хроматографії або екстракційного очищення гексаном.

Методика УФ-спектрофотометричного визначення лоратадину. Пробу хлороформної витяжки, отриману одним із вказаних методів ізолювання, поміщали у порцелянову чашку, випаровували на водяній бані (40 °С), сухий залишок розчиняли в 0,5 мл хлороформу. На лінію старту хроматографічної пластинки "Sorbfil" наносили рискою 2 см 0,05 мл випарованої хлороформної витяжки з біологічного матеріалу, що еквівалентна 1 г біологічного матеріалу. На відстані 2 см від цієї риски на лінію старту наносили аналогічну риску 0,01 мл (20 мкг) стандартного розчину лоратадину. Пластинку піддавали елююванню в камері з хлороформом до лінії фінішу. Після цього пластинку висушували, частину, що відповідала плямі витяжки з біологічного матеріалу, закривали чистим склом і проявляли пляму, яка відповідала стандартному розчину лоратадину, реактивом Драгендорфа, модифікованим за Муньє. За даних умов хроматографування спостерігався задовільний розподіл плям лоратадину та співекстрактивних речовин, які залишалися нижче та вище плями препарату.

Знімали скальпелем шар сорбенту розміром 3,0x1,5 см з плямою лоратадину з біологічного матеріалу на рівні знаходження плями стандартного розчину препарату. З цього шару сорбенту лоратадин тричі елюювали в пробірці 10 мл хлороформу протягом 10 хв, фільтрували, переносили у порцелянову чашку та випаровували на водяній бані (40 °С). Після цього розчиняли сухий залишок у 10 мл етанолу та знімали значення оптичної густини на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі (244±2) нм. Як розчин порівняння використовували розчин, одержаний при проведенні контрольного досліду. Концентрацію лоратадину визначали за допомогою градуювального графіка.

У разі ізолювання лоратадину з біологічного матеріалу хлороформом вимірювали об'єм отриманої хлороформної витяжки, відбирали у ділильну лійку третину, збовтували 3 рази по 10 мл з новими порціями 0,1 М кислоти хлоридної протягом 5-7 хв. У верхніх водних шарах утворювалась пінна емульсія, яку руйнували за допомогою центрифугування (протягом 5 хв зі швидкістю 6000 об/хв). Кислу водну витяжку (рН≈2) відокремлювали за допомогою ділильної лійки, двічі збовтували протягом 5 хв з новими порціями гексану (по 10 мл). Гексанові шари відокремлювали і далі не досліджували. Кислу водну витяжку підлужнювали 25 % розчином амоніаку до рН 5-6 за універсальним індикатором і тричі збовтували з новими порціями хлороформу (по 10 мл). Хлороформні витяжки об'єднували та аналізували. Виявлення та кількісне визначення лоратадину проводили методом УФ-спектроскопії без попереднього ТШХ-очищення.

Паралельно визначали препарат у досліджуваних розчинах за допомогою методу екстракційної фотометрії.

При розробці умов екстракційно-фотометричного визначення лоратадину ми вивчили вплив рН водної фази на утворення та екстракцію іонних асоціатів препарату з метиловим оранжевим, вплив на цей процес кількості барвника, а також здійснили вибір оптимального світлофільтра та робочої довжини кювети. Було встановлено, що 0,1 % розчин метилового оранжевого утворює з лоратадином у середовищі буферного розчину з рН 4,6 іонні асоціати, які екстрагуються хлороформом. Оскільки забарвлення розчинів іонних асоціатів виявилось малоінтенсивним, то для підсилення чутливості методу утворені асоціати руйнували шляхом додавання до хлороформного розчину 1 % розчину сульфатної кислоти в абсолютному етанолі. При цьому одержували розчини,

які мали значно вищу оптичну густину. Величину рН буферного розчину контролювали за допомогою рН-метра рН-150.

Методика побудови градуювального графіка для екстракційно-фотометричного визначення лоратадину. В ділильні лійки вносили 5 мл ацетатного буферного розчину з рН 4,6 [7], 5 мл 0,1 % розчину метилового оранжевого та додавали по 0,05; 0,2; 0,4; 0,8; 1,1; 1,4; 1,7; 2,0 мл стандартного розчину лоратадину в хлороформі, в 1 мл якого містилось 1000 мкг препарату (в усіх випадках об'єм доданого стандартного розчину доводили хлороформом до 10 мл). Ділильні лійки струшували (апарат для струшування АБУ-6с, частота – 120 стр./хв) протягом 10 хв, потім залишали на 10 хв для розділення фаз. Хлороформні шари відокремлювали та додавали до них по 2,00 мл 1 % розчину кислоти сульфатної в абсолютному етанолі. Одержану суміш ретельно перемішували. Оптичну густину забарвлених розчинів вимірювали за допомогою фотоколориметра КФК-2 (світлофільтр з $\lambda=(540\pm 10)$ нм, товщина шару рідини – 20 мм). Як розчин порівняння використовували розчин, отриманий у контрольному досліді.

Методика екстракційно-фотометричного визначення лоратадину. До половини хлороформної витяжки, отриманої одним із зазначених методів, додавали 5 мл ацетатного буферного розчину з рН 4,6 та 5 мл 0,05 % розчину кислотного індикатора метилового оранжевого. Далі робили, як зазначено у методиці побудови градуювального графіка. Паралельно проводили контрольний дослід.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При розробці методики кількісного визначення лоратадину за допомогою методу УФ-спектрофотометрії встановлено, що оптична густина розчинів підпорядковується основному закону світлопоглинання при вмісті від 2 до 25 мкг лоратадину в 1 мл етанолу. Середня відносна помилка в зазначеному інтервалі концентрацій становить ±1,60 %.

Оптична густина забарвлених розчинів лоратадину при проведенні кількісного визначення методом екстракційної фотометрії підпорядковується основному закону світлопоглинання в межах концентрацій від 50 до 2000 мкг препарату в 12 мл кінцевого об'єму (середня відносна помилка – ±1,89 %).

Результати визначень концентрації лоратадину у витяжках з біологічного матеріалу за допомогою УФ-спектрофотометричного та екстракційно-фотометричного методів наведено в таблиці 1.

Таблиця 1 – Результати ізолювання лоратадину з біологічного матеріалу (модельні суміші з печінкою) та їх метрологічні характеристики (середнє з 5 визначень, $\alpha=0,95$)

№	Метод ізолювання	Метод аналізу			
		Спектрофотометричний після очищення методом ТШХ		Екстракційно-фотометричний	
		виділено лоратадину, %	метрологічні характеристики	виділено лоратадину, %	метрологічні характеристики
1	О.О.Васильєвої	21,13	$\bar{x}=21,13; S=0,83;$ $S_x=0,37;$ $\Delta \bar{x}=\pm 1,04; \varepsilon=\pm 4,9$	45,26	$\bar{x}=45,26; S=1,98;$ $S_x=0,88;$ $\Delta \bar{x}=\pm 2,45; \varepsilon=\pm 5,41$
2	Стаса-Отто	5,12	$\bar{x}=5,12; S=0,62;$ $S_x=0,27;$ $\Delta \bar{x}=\pm 0,76; \varepsilon=\pm 14,85$	10,4	$\bar{x}=10,4; S=1,14;$ $S_x=0,51;$ $\Delta \bar{x}=\pm 1,42; \varepsilon=\pm 13,65$
3	В.П. Крамаренка	18,6	$\bar{x}=18,60; S=0,58;$ $S_x=0,26;$ $\Delta \bar{x}=\pm 0,73; \varepsilon=\pm 3,92$	39,6	$\bar{x}=39,6; S=1,47;$ $S_x=0,66;$ $\Delta \bar{x}=\pm 1,83; \varepsilon=\pm 4,62$
4	Ізолювання хлороформом	46,55	$\bar{x}=46,55; S=1,32;$ $S_x=0,59;$ $\Delta \bar{x}=\pm 1,65; \varepsilon=\pm 3,54$	69,8	$\bar{x}=69,8; S=1,85;$ $S_x=0,83;$ $\Delta \bar{x}=\pm 2,31; \varepsilon=\pm 3,31$

Результати ізолювання лоратадину з біологічного матеріалу свідчать про те, що за допомогою загальноприйнятих у хіміко-токсикологічному аналізі методів можна виділити до 45 % препарату (метод О.О. Васильєвої). Найоптимальнішою є запропонована нами методика ізолювання хлороформом, яка дозволяє виділити з біологічного матеріалу до 70 % препарату (табл. 1). Крім того, розроблена методика є більш експресною.

Порівняння результатів кількісного визначення лоратадину у витяжках з біологічного матеріалу методами УФ-спектрофотометрії та екстракційної фотометрії дозволяє зробити висновок, що обидва методи можна використовувати з цією метою. Але метод екстракційної фотометрії дає можливість визначати препарат безпосередньо у витяжках з біологічного матеріалу без застосування додат-

кового очищення методом ТШХ. Результати досліджень свідчать про те, що при хроматографічному очищенні втрати лоратадину коливаються в межах 25 %. Це призводить до погіршення результатів кількісного визначення порівняно з результатами, одержаними до вказаного очищення (табл. 1).

ВИСНОВКИ. 1. Вивчено умови ізолювання лоратадину з біологічного матеріалу в модельних сумішах з печінкою за методами О.О. Васильєвої, В.П. Крамаренка, Стаса-Отто.

2. Запропоновано ефективну експресну методику ізолювання лоратадину хлороформом, яка дозволяє виділити до 70 % препарату.

3. Встановлено, що для визначення вмісту лоратадину у витяжках з біологічного матеріалу можуть бути використані УФ-спектрофотометричний та екстракційно-фотометричний методи.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бертрам Г. Катцунг. Базисная и клиническая фармакология. – М.: Бином, 1998. – 1. – С. 545-557.
2. Болотов В.В., Ахмедов Е.Ю. Порівняльна оцінка методів виділення трамалу з біологічного матеріалу // Вісник фармації. – 2001. – № 1(25). – С. 16-19.
3. Болотов В.В., Мороз В.П., Зареченський М.А.

Порівняльна оцінка методів виділення метоклопраміду з біологічного матеріалу // Вісник фармації. – 1999. – № 1(19). – С. 45-48.

4. Еременко Р.Ф. Лоратадин: фармакотерапевтические свойства и применение в медицине (обзор) // Провизор. – 1999. – № 9. – С. 45-46.

5. Караулов А.В. Кларотадин в лечении аллер-

гических заболеваний // *Международ. мед. журн.* – 2001. – № 2. – С. 8-11.

6. Крамаренко В.П. Хіміко-токсикологічний аналіз. – К.: Вища школа, 1995. – 423 с.

7. Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии. – М.: Химия, 1979. – 312 с.

8. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – Харьков: Торсинг, 1997. – 1. – С. 108.

9. Спасов А.А., Черников М.В. Гистамин: рецепторы и гистаминерические вещества (обзор) // *Химфарм. журн.* – 2000. – № 8. – С. 3-15.

10. Hey J.A., Affrime M., Cobert B. et al. Cardiovascular profile of loratadine (suppl) // *Clin. Exp. Allergy.* – 1999. – **29**, № 3. – P. 197-199.

11. Hoffman R.J., de Souza I., Stetz J.E. et al. Prolonged QT segment ad syncope with loratadine use //

J. Toxicol. Clin. Toxicol. – 2001. – **39**, № 5. – P. 505.

12. Kay G.G., Harris A.G. Loratadine: a non-sedating antihistamine. Review of its effects on cognition, psychomotor performance, mood and sedation // *Clin. Exp. Allergy.* – 1999. – **29**, № 3. – P. 147-150.

13. Kundu S., Williams S.R., Nordt De Ponti F. et al. QT interval prolongation by non-cardiac drugs: lessons to be learned from recent experience // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* – 2000. – **56**. – P. 1-18.

14. S. P., Clark R.F. Clarithromycin – induced ventricular tachycardia // *Ann. Emerg. Med.* – 1997. – **30**. – P. 542-544.

15. Schiano T. D., Bellary S. V., Cassidy V. J. et al. Subfulminant liver failure and severe hepatotoxicity caused by loratadine use // *Ann. Intern. Med.* – 1996. – **125**, № 9. – P. 738-740.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МЕТОДОВ ВЫДЕЛЕНИЯ ЛОРАТАДИНА ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

О.Б. Поляк, В.С. Бондар

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Изучены условия изолирования лоратадина из биологического материала по методам А.А. Васильевой, Стаса-Отто, В.Ф. Крамаренко. Показано, что метод А.А. Васильевой позволяет выделить приблизительно 45 % препарата с модельных смесей лоратридина с печенью, метод Стаса-Отто 10 %, а метод В.Ф. Крамаренко – 40 %. Предложена эффективная методика изолирования лоратадина с помощью хлороформа, которая дает возможность выделить из биологического материала до 70 % препарата.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: лоратадин, биологический материал, изолирование, очистка, обнаружение, количественное определение.

COMPARATIVE ESTIMATION OF METHODS OF LORATADINE ISOLATION FROM BIOLOGICAL MATERIAL

O.B. Polyak, V.S. Bondar

NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

Summary

The conditions of loratadine isolation from biological material by means of methods by O.O. Vasilyeva, Stas-Otto, V.P. Kramarenko have been investigated. It is shown that Vasilyeva's method allows to isolate 45 % of loratadine, Kramarenko's method – 40 % and Stas-Otto's method – about 10 %. The effective method of loratadine isolation with the help of chloroform has been collaborated. It allows to isolate 70 % of the preparation from biological material.

KEY WORDS: loratadine, biological material, isolation, purification, revealing, quantitative determination.

Отримано 25.12.2003 р.

Адреса для листування: В.С. Бондар, кафедра токсикологічної хімії, Національний фармацевтичний університет, вул. Блюхера, 4, Харків, 61168, Україна.

БІОХІМІЧНІ АСПЕКТИ ДІЇ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ. II. МОДУЛЯЦІЇ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ, ТРАНСПОРТНИХ І СТРУКТУРНИХ БІЛКІВ, БІОМОЛЕКУЛ НЕБІЛКОВОЇ ПРИРОДИ

Я.І. Гонський, Т.П. Максимчук¹

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
ІВАНО-ФРАНКІВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ¹

У роботі узагальнено численні дані про механізми дії лікарських засобів на молекулярному рівні. Основну увагу зосереджено на молекулах-мішенях для лікарських засобів: ферментах, білках-транспортних, нуклеїнових кислотах, низькомолекулярних речовинах. Показано значення фундаментальних досліджень для цілеспрямованого створення нових, ефективних, вибірково діючих лікарських засобів. Наведено класифікацію лікарських засобів за механізмом дії.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: лікарські засоби, механізми дії, молекули-мішені.

Крім рецепторів сигнальних молекул (СМ) та інших компонентів систем трансдукції сигналів, мішенями для дії багатьох лікарських засобів (ЛЗ) є ферменти, транспортні та структурні білки, біомолекули небілкової природи [1, 14, 15]. Аналогічно до поділу ЛЗ-лігандів рецепторів ендогенних СМ на агоністи та антагоністи, ЛЗ, що зв'язуються з ферментами, можуть бути активаторами чи інгібіторами. В основному як ЛЗ використовують інгібітори ферментів і, значно рідше, активатори (реактиватори) [12, 15]. Як відомо, розрізняють конкурентні, неконкурентні, безконкурентні інгібітори, а за силою зв'язування – зворотні і незворотні [3, 4]. Більшість ЛЗ-інгібіторів ферментів є аналогами субстратів, вітамінів і коферментів, тобто близькі за структурою і характером розподілу електронів. На основі вивчення ізоферментних форм певних ферментів, структурних відмінностей їх активних центрів створено ЛЗ-інгібітори з більшою вибірковістю дії (інгібітори MAO-A і MAO-B, ізоформ фосфодіестераз циклічних нуклеотидів, циклооксигеназ I і II, ДНК- і РНК-полімераз, топоізомераз) [8, 12, 15].

Слід відмітити, що теорії дії ЛЗ, які взаємодіють із специфічними рецепторами, розроб-

© Я.І. Гонський – д.мед.н., проф., Т.П. Максимчук – к.мед.н., 2004.

ляли порівняно з теорією ферментного каталізу [1]. Припускали, що рецептори за своїми властивостями (кінетика зв'язування лігандів, специфічність дії, модуляція активності іншими речовинами) тотожні ферментам. Проте існує істотна відмінність між механізмами дії ЛЗ-лігандів рецепторів ендогенних СМ і ЛЗ-лігандів ферментів. Для перших зв'язування з рецептором і зміна його конформації є ініціаторним етапом багатостадійного процесу передачі і трансформації сигналу, що призводить до реалізації фармакологічного ефекту (для агоністів) чи блокади пострецепторного процесу (для антагоністів). Зв'язування ЛЗ-модуляторів активності ферментів (активаторів чи інгібіторів) безпосередньо підвищує або знижує (аж до повної втрати) активність ферменту і тим самим впливає на процеси метаболізму. Як ЛЗ використовують інгібітори ферментів метаболізму ліпідів (ГМГ-КоА-редуктази, ліпаз, γ -бутиробетаїнгідроксилази і карнітин-пальмітоїл-трансферази), білків (трипсину, хімотрипсину, калікреїну, плазміну), нуклеїнових кислот (ДНК-полімераз, РНК-полімераз, зворотної транскриптази, ДНК-топоізомераз), нуклеотидів (тимідилатсинтази, рибонуклеотидредуктаз, дигідрофолатредуктази, інозинатдегідрогенази, ксантинооксидази), вуглеводів (альдозоредуктази), водно-мінерального обміну (карбо-

ангідрази), ферментів синтезу різних компонентів клітинних стінок і мембран бактерій, грибів [12, 15]. А значна група ЛЗ інгібує активність ферментів, які каталізують реакції синтезу чи розпаду (інактивації) ендogenous СМ (нейромедіаторів, гормонів), а отже, реалізують свої фармакологічні ефекти опосередковано через зміни концентрації СМ. Сюди відносять інгібітори ацетилхолінестерази, моноамінооксидази, ГАМК-амінотрансферази, ангіотензинперетворювального ферменту, простагландинсинтази, ліпооксигенази, ферментів синтезу тиреоїдних гормонів, глюкокортикоїдів тощо.

Наступна група мішеней для дії ЛЗ – білки, які беруть участь у трансмембранному перенесенні ендogenous речовин (нейромедіаторів, метаболітів, іонів) [1, 14]. Фармакологічний ефект ЛЗ, що впливають на процеси депонування нейротрансмітерів у пресинаптичних пухирцях, вивільнення з депо чи зворотного захоплення, також реалізується опосередковано через зміни кількості нейротрансмітерів у синаптичній щілині. В основі фармакотерапевтичних ефектів багатьох ЛЗ лежить вплив на іонні канали. Серед ЛЗ, фармакологічний ефект яких реалізується через зміни концентрації іонів (Na^+ , Ca^{2+} , K^+ , H^+ , Cl^-), можна виділити специфічні, що діють на активність якоїсь однієї транспортної системи (іонного каналу, іонної помпи, тобто іонозалежної АТФази, транспортера-обмінника, котранспортера), менш специфічні, що змінюють роботу декількох транспортних систем (наприклад, серцеві глікозиди, цинаразин), та неспецифічні як засоби для інгаляційного наркозу, що є блокаторами різних іонних каналів, а також модулюють синаптичну передачу нервових імпульсів різними нейротрансмітерами. Розкриття гетерогенності Ca^{2+} -, Na^+ - і K^+ -каналів сприяє створенню ЛЗ вузьковибіркової направленості дії [14].

Мішенню для дії ряду протипухлинних, імунодепресивних та протимікробних засобів є молекули ДНК [1, 12, 15]. Так, група протипухлинних антибіотиків інтеркалює у подвійну спіраль ДНК, тобто молекули антибіотика вклинюються між сусідніми азотистими основами полінуклеотидного ланцюга, що зумовлює локальну деформацію структури і перешкоджає розплітання подвійної спіралі ДНК-матриці та рухові ферментів полімераз. В результаті гальмується синтез ДНК і/або РНК. Протипухлинний антибіотик блеоміцин утворює потрійний комплекс "блеоміцин-ДНК-Fe (II)", в якому внаслідок реакції окиснення атома вуглецю залишку дезоксирибози відбуваються фрагментація ДНК, порушення реплікації.

Пригнічують реплікацію, зв'язуючись з ДНК-матрицею, протипротозойні препарати пентамідин, оксамніхін, ніридазол.

З нуклеофільними центрами ДНК (N7 гуаніну, N1 і N3 аденіну, N3 цитозину) взаємодіють протипухлинні алкілувальні засоби. Відбувається реакція перенесення алкільних груп на нуклеофільні центри, що призводить до перехресного зшивання ланцюгів подвійної спіралі ДНК, розривів ланцюгів, блокади мітотичного поділу клітин. Алкілувальні препарати також алкілюють функціональні групи білків (сульфгідрильні, амініні, карбоксильні), що зумовлює порушення їх функціонування.

Як розглянуто вище, з специфічними послідовностями ДНК зв'язуються комплекси ліпідорозчинних ендogenous СМ (стероїдних і тиреоїдних гормонів, активної форми вітаміну Д, ретиноїдів) з відповідними білками-рецепторами, що викликає зміни експресії специфічних генів. Аналогічно діють ЛЗ – синтетичні аналоги глюкокортикоїдів і статевих гормонів стероїдної та нестероїдної природи, анаболічні стероїдні препарати [12, 15].

Генну терапію також можна розглядати як взаємодію лікарського препарату (гена) з ДНК-мішенню [14]. Основна проблема генотерапії полягає в розробці безпечних і ефективних систем перенесення гена в клітину-мішень. На даний час розроблена і досліджується величезна кількість векторів (вірусних, білкових, ліпосом) для перенесення генів, виділено терапевтичні гени (функціональні гомологи дефектних генів для терапії генетичних захворювань, гени-супресори росту пухлин, гени-самовбивці, гени-інгібітори експресії вірусних генів) [5, 9, 10]. Іншим підходом для направленої модуляції експресії генів є використання антисмислових РНК та олігонуклеотидів, здатних гібридизуватися з мРНК і, таким чином, блокувати процес трансляції. Ділянки ДНК, тимчасово відкриті під час транскрипції, також є мішенню для антисмислових олігонуклеотидів. Для вибіркової тканинносPECIFICHOЇ доставки генів та антисенс-молекул розробляють вектори з лігандами до певних унікальних рецепторів на поверхні клітин-мішеней, кон'югати пептидно-нуклеїнових кислот [10].

Сучасні протипухлинні засоби відрізняються за механізмом дії [12, 15]. Молекулами-мішенями для їх дії є ДНК і ферменти біосинтезу ДНК та її попередників – нуклеотидів, а також білок тубулін мікротрубочок (для алкалоїдів барвінку), рецептори гормонів чи ферменти їх обміну у випадках гормонозалежних пухлин. Проте дослідження останнього десятиріччя показали, що, незалежно від конкрет-

ного механізму дії, цитотоксичний ефект більшості протипухлинних засобів реалізується шляхом індукції апоптозу (запрограмованої загибелі клітин) [11, 13]. Протипухлинні засоби викликають апоптоз, використовуючи ті ж механізми, що і фізіологічні індуктори апоптозу: стимуляцію гена-супресора пухлинного росту p53, модуляцію генів родини bcl-2, включення рецептора CD95, активацію ефекторних протеаз і ендонуклеаз, блокаду рецепторів антиапоптичних факторів росту і стимуляцію проапоптичних. Проте дуже часто мутації гена p53 та надекспресія гена bcl-2 у пухлинних клітинах роблять їх нечутливими до дії індукторів апоптозу і зумовлюють лікарську резистентність [7, 11]. Упродовж останніх років розроблено нову стратегію протипухлинної терапії, орієнтовану на індукцію апоптозу, зняття резистентності до проапоптичної дії протипухлинних засобів. Експериментальні й клінічні дослідження показали, що заміна методами генотерапії мутантних генів p53 нормальним та використання антисмислових олігонуклеотидів до мРНК bcl-2 значно підвищують ефективність хіміотерапії пухлин [7].

На даний час відкрито важливу роль апоптичної загибелі клітин в патогенезі різноманітних захворювань, розробляються методи терапії, що ґрунтуються на фармакологічному контролі процесу апоптозу. Мішенями для терапевтичного втручання є різні компоненти систем трансдукції та реалізації сигналів клітинної загибелі.

Наступна група мішеней для дії ЛЗ – низькомолекулярні органічні і неорганічні речовини [1, 12, 15]. Зокрема, полімерні аніонообмінні смоли (холестирамін) утворюють у кишечнику комплекс з жовчаними кислотами, а препарати сапонінів рослин (поліспонін, трибуспонін) – з холестерином. Як наслідок гальмується абсорбція холестерину їжі й знижується концентрація його в крові (протиатеросклеротична дія). Протимікозні полієнові антибіотики зв'язуються з ергостерином клітинних мембран грибів, що зумовлює утворення пор, пошкодження мембран і загибель клітин грибів. Така ж дія властива інгібіторам ферментів синтезу ергостеролу (ламзілу, азоловим препаратам). Протимікробні антибіотики поліміксини, зв'язуючись з фосфатидилетаноламінами мембран бактерій, підвищують проникність мембран, що зумовлює бактерицидну дію.

Різнманітні природні і синтетичні антиоксиданти (АО) інактивують активні форми кисню (H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot} , 1O_2 , $ClO^{\cdot-}$, $ONOO^{\cdot-}$), вільні радикали жирних кислот, пероксиди і гідрпероксиди ліпідів [3, 4]. Виділяють прямі АО, які

безпосередньо інактивують названі оксиданти, і непрямі, що сприяють синтезу чи активності прямих АО або знижують продукування активних форм кисню [6, 12]. Також їх можна поділити на: 1) ферменти – супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза, церулоплазмін; 2) вітаміни і вітаміноподібні речовини – токоферолі, ретинол і β -каротиноїди, аскорбінова кислота, вітамін Р (біофлавоноїди), убіхінони; 3) сірковмісні амінокислоти і пептиди – цистеїн, метіонін, глутатіон та їх похідні; 4) інші метаболіти – амінокислоти (глутамат, гістидин, триптофан), сечова кислота, сечовина, етанол; 5) рослинні поліфенольні сполуки; 6) селеніт натрію і селеновмісні аналоги амінокислот; 7) синтетичні АО різної хімічної структури – емоксипін, мексидол, сантохін, фенозан, дибунол. Крім того, антиоксидну дію проявляють ЛЗ інших груп: хелатори металів зі змінною валентністю, інгібітори циклооксигеназного і ліпооксигеназного шляхів метаболізму арахідонової кислоти, стабілізатори клітинних мембран, інгібітори основних шляхів продукування активних форм кисню [2].

Соляну кислоту шлункового соку нейтралізують антацидні засоби. Осмотично активні речовини зв'язують молекули води в кишечнику (сольові проносні засоби – сульфати натрію і магнію), знижують реабсорбцію води у проксимальних ниркових каналцях і низхідній частині петлі Генле (осмотичні діуретики – маніт, сечовина). Цитрат натрію, що зв'язує вільні іони кальцію, застосовують як антикоагулянт. При отруєннях організму важкими і рідкоземельними металами, радіонуклідами та деякими іншими токсичними речовинами як антидоти використовують комплексононі (хелатороутворювальні агенти) [1, 12, 15]. Механізм їх дії ґрунтується на утворенні стабільних і нетоксичних комплексів з іонами металів та швидкому виведенні цих комплексів з організму. Деякі комплексононі є малоселективними, їх використовують при отруєннях рядом металів, металоорганічними сполуками, а також неметаловмісними токсичними речовинами, лікарськими засобами. До таких антидотів відносять тіолові препарати – БАЛ (димеркапрол), унітіол, поліамінополікарбоніві кислоти (тетацин-кальцій, пентацин). Більш селективними засобами при отруєннях міддю та надмірному відкладанні її в тканинах в разі спадкової хвороби Вільсона (гепатолентикулярної дегенерації) є пеніциламін (купреніл) і ТЕТА (триетилтетрааміндігідрохлорид), при отруєннях сполуками заліза та патологічному відкладанні його в разі спадкового і вторинних гемохроматозів – дефероксамін (полігідрокса-

мова кислота), при отруєннях берилієм – ауринтрикарбонова кислота. Для неспецифічного поглинання різних токсичних речовин органічної та неорганічної природи використовують адсорбенти, зокрема засоби для ентеро-, гемо-, лімфо-, плазмосорбції, рослинні засоби – пектини, клітковину [8, 12, 15].

Усі розглянуті вище мішені чи рецептори для дії ЛЗ є високо- чи низькомолекулярними хімічними речовинами (молекулами, іонами, вільними радикалами). А фармакологічний ефект іншого ряду ЛЗ реалізується шляхом впливу на рецептори – спеціалізовані структури (чутливі нервові закінчення, рецепторні клітини), які сприймають, трансформують і передають в ЦНС подразнення [12, 15]. При цьому одна частина ЛЗ знижує чутливість рецепторів чи захищає їх від подразнень – обволікальні, пом'якшувальні та в'язучі, а інша частина збуджує рецептори – гіркоти, подразнювальні, блювотні (рефлекторної дії), проносні, відхаркувальні (бронхосекреторні рефлекторної дії).

Нижче наведено класифікацію ЛЗ, що ґрунтується на природі мішеней-рецепторів і механізмів дії. При цьому окремо виділяють ЛЗ, які взаємодіють з мішенями-рецепторами

організму людини, та ЛЗ, які взаємодіють з мішенями-молекулами організмів паразитів, бактерій, вірусів (антисептичні, дезінфекційні, протимікробні, противірусні, протипротозойні, протимікозні, протигельмінтні засоби). У третю групу виділено біогенні ЛЗ (речовини, що є нормальними біохімічними компонентами організму людини) та їх попередники, крім включених у першу групу нейромедіаторів, гормонів та інших біологічно активних речовин. Сюди входять препарати: 1) амінокислот, пептидів, білків, у т. ч. ферментів; 2) азотистих основ, нуклеотидів і нуклеїнових кислот; 3) вуглеводів і продуктів їх метаболізму; 4) ліпідів; 5) вітамінів і коферментів; 6) неорганічних речовин, макро- і мікроелементів [8]. Механізм фармакологічної дії біогенних ЛЗ полягає в їх участі у біохімічних реакціях метаболізму як субстратів, метаболітів, кофакторів і ферментів, регуляторних речовин, тобто тотожний їх функціонуванню при надходженні з їжею чи біосинтезі в організмі [12, 15].

Таким чином, на сучасному етапі стратегія пошуку і створення високоефективних і вибірково діючих ЛЗ значно розширена за рахунок підходів, що ґрунтуються на детальному вив-

Класифікація лікарських засобів (ЛЗ) за механізмом дії

I. ЛЗ, які взаємодіють з мішенями – біомолекулами організму людини:

1. ЛЗ, що впливають на сигнальні функції нейротрансмітерів, гормонів, цитокінів.
 - 1а. Агоністи та антагоністи рецепторів СМ.
 - 1б. Активатори та інгібітори ферментів метаболізму СМ.
 - 1в. Активатори та блокатори білків-транспортів нейротрансмітерів.
 - 1г. ЛЗ, які змінюють рівень вторинних посередників (цАМФ, продуктів обміну фосфоінозитидів, Ca^{2+} , цГМФ, NO).
2. Активатори і блокатори іонних каналів та іонних помп.
3. Інгібітори та активатори ферментів різних метаболічних шляхів (крім включених в інші групи).
4. ЛЗ, які взаємодіють з іншими білками-неферментами (транспортери низькомолекулярних речовин, гемоглобін, тубулін).
5. ЛЗ, які взаємодіють з нуклеїновими кислотами.
6. ЛЗ, які взаємодіють з низькомолекулярними речовинами.
7. ЛЗ, що діють на рецептори – спеціалізовані структури (нервові закінчення, рецепторні клітини).

II. ЛЗ, які взаємодіють з мішенями-біомолекулами організмів бактерій, паразитів, вірусів:

1. Рецепторами нейротрансмітерів.
2. Ферментами.
3. Білками-неферментами (рибосомальними, тубуліном).
4. Різними білками (антисептичні, дезінфекційні засоби).
5. Нуклеїновими кислотами.
6. Низькомолекулярними речовинами.

III. Біогенні ЛЗ та їх попередники (крім включених в інші групи нейротрансмітерів, гормонів та інших СМ):

1. Амінокислоти, пептиди, білки.
2. Азотисті основи, моно- й олігонуклеотиди, нуклеїнові кислоти.
3. Вуглеводи і продукти їх обміну.
4. Ліпіди.
5. Вітаміни і коферменти.
6. Неорганічні речовини, макро- і мікроелементи.

ченні молекулярних механізмів росту, розмноження, диференціації та смерті клітин, міжклітинних взаємодій, розвитку і функціонування спеціалізованих тканин, регуляції гомеостазу цілісного організму та порушень цих процесів в умовах патології [14]. Величезна кількість нововідкритих біомолекул білкової і небілкової природи можуть бути потенційними мішенями для дії нових груп ЛЗ. Відкриття і детальне

вивчення структур нових підтипів рецепторів СМ, ізоформ ферментів, білків-транспортних, білків-трансдукторів дозволяють створювати ЛЗ вибіркової дії із значно вужчим спектром фармакологічної активності. Результати фундаментальних досліджень біохімії, молекулярної біології і генетики, протеоміки і геноміки мають принципове значення для прогресу фармакології і практичної медицини.

ЛІТЕРАТУРА

1. Альберт А. Избирательная токсичность. Физико-химические основы терапии: Пер. с англ.: В 2 т. – М.: Медицина, 1989. – **1**. – 400 с.; **2**. – 432 с.
2. Беленічев І.Ф., Коваленко С.І., Дунаєв В.В. Антиоксиданти: сучасні уявлення, перспективи створення // Ліки. – 2002. – № 1-2. – С. 43-47.
3. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинский М.І. Біохімія людини: Підручник. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – 744 с.
4. Губський Ю.І. Біологічна хімія: Підручник. – Київ-Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. – 508 с.
5. Дризе Н.И., Друцкая М.С. Генотерапия соматических клеток: стратегия и тактика // Гематол. и трансфузиол. – 2000. – **45**, № 4. – С. 42-45.
6. Зайцев В.Г., Островский О.В., Закревский В.И. Связь между химическим строением и мишенью действия как основа классификации антиоксидантов прямого действия // Эксперим. и клинич. фармакол. – 2003. – **66**, № 4. – С. 66-70.
7. Лукьянова Н.Ю., Кулик Г.И., Чехун В.Ф. Роль генов p53 и bcl2 в апоптозе и лекарственной резистентности опухолей // Вопр. онкол. – 2000. – **46**, № 2. – С. 121-128.
8. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. – Харьков: Торгсинг, 1997. – **1**. – 560 с.; **2**. – 592 с.
9. Пономарев В.Б., Румянцев А.Г. Теоретические основы и перспективы генотерапии в гематологии и онкологии // Гематол. и трансфузиол. – 2002. – **47**, № 1. – С.29-39.
10. Середенин С.Б., Вахитова Ю.В., Вахитов В.А. Молекулярно-биологические подходы к созданию геноспецифических фармакологических препаратов // Эксперим. и клинич. фармакол. – 2001. – **64**, № 3. – С. 3-12.
11. Ставронская А.А. Клеточные механизмы множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток // Биохимия. – 2000. – **65**, № 1. – С. 112-126.
12. Фармакологія: Підручник / За ред. І.С. Чекмана. – К.: Вища шк., 2001. – 598 с.
13. Фильченков А.А., Стойка Р.С. Апоптоз и рак. – К.: Морион, 1999. – 184 с.
14. Харкевич Д.А. Основные направления создания новых лекарственных средств // Эксперим. и клинич. фармакол. – 2003. – **66**, № 3. – С. 74-79.
15. Харкевич Д.А. Фармакология: Учебник. – М.: ГЭОТАР Медицина, 1999. – 664 с.

БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ. II. МОДУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ, ТРАНСПОРТНЫХ И СТРУКТУРНЫХ БЕЛКОВ, БИМОЛЕКУЛ НЕБЕЛКОВОЙ ПРИРОДЫ

Я.И. Гонский, Т.П. Максимчук¹

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО
ИВАНО-ФРАНКОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ¹

Резюме

В работе обобщены многочисленные данные о механизмах действия лекарственных средств на молекулярном уровне. Главное внимание сосредоточено на молекулах-мишенях для лекарственных

средств: ферментах, белках-транспортерах, нуклеиновых кислотах, низкомолекулярных веществах. Показано значение фундаментальных исследований для целенаправленного создания новых, эффективных, избирательно действующих лекарственных средств. Представлена классификация лекарственных средств по механизму действия.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: лекарственные средства, механизмы действия, молекулы-мишени.

BIOCHEMICAL ASPECTS OF DRUG ACTION. II. MODULATIONS OF ENZYME ACTIVITY, TRANSPORTING AND STRUCTURAL PROTEINS, BIOMOLECULES OF INPROTEIN NATURE

Ya.I. Honsky, T.P. Maksymchuk¹

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

IVANO-FRANKIVSK STATE MEDICAL ACADEMY¹

Summary

In this article the attempt was made to summarize a significant amount of data regarding mechanisms of drug action on the molecular level. The main focus is made on target molecules for drugs: enzymes, transporting proteins, nucleic acids, low-molecular substances. It is shown the significance of fundamental investigations for purposeful creation of new effective selective-acting drugs. The drugs classification by their mechanism of action is presented.

KEY WORDS: drugs, mechanisms of action, target molecules.

Отримано 22.12.2003 р.

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

МЕДИЧНІ АСПЕКТИ ПРОБЛЕМИ ОСТЕОПОРОЗУ

С.М. Андрейчин, М.І. Швалюк

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

В огляді літератури на основі сучасних відомостей обговорюються механізми розвитку остеопорозу, вплив гормональних і локальних факторів на кісткову перебудову, роль різних захворювань у становленні і прогресуванні вторинних метаболічних остеопатій.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **остеопороз, кісткова тканина, гормони.**

Остеопороз є однією з актуальних проблем. У його основі лежать прогресуюче зниження кісткової маси і порушення структури кісткової тканини [14]. Усе більшого значення проблема набуває у зв'язку із зростанням у популяції кількості людей літнього і старечого віку, в тому числі жінок в постменопаузальний період життя [18, 20, 31]. За даними експертів ВООЗ, остеопороз займає третє місце після серцево-судинних захворювань і цукрового діабету [21]. Для остеопорозу характерна майже повна відсутність клінічних проявів, тому його часто називають "тихою", "мовчазною" епідемією ХХ сторіччя [6, 9].

Високий рівень захворюваності й летальності перш за все зумовлений ускладненнями остеопорозу: переломами хребців, шийки стегна, променевої кістки тощо. За даними американських дослідників, у популяції білих жінок, старших 50 років, смертність внаслідок ускладнень після переломів шийки стегна складає 2,8 %, що відповідає відсотку смертності серед жінок з раком молочної залози [20]. Переломи стегна призводять до зниження очікуваної середньої тривалості життя на 12-15 % [22].

Згідно із сучасною класифікацією, прийнятою в 1997 році на засіданні президії Російської асоціації з остеопорозу, розрізняють первинний і вторинний остеопороз [15]. Первинний остеопороз є самостійним процесом, що має системний характер і не пов'язаний з якимись захворюваннями. До нього відносять постменопаузальний (тип I) і сенільний (тип II), які становлять 85 % всіх випадків, а також ювенільний

та ідіопатичний. До вторинних форм належать остеопатії, пов'язані з іншими захворюваннями (синдромом Кушинга, тиреотоксикозом, гіпогонадізмом, ревматоїдним артритом, ревматизмом тощо) і прийманням медикаментів (глюкокортикоїдів, тиреоїдних гормонів, гепарину, барбітуратів тощо) [11]. В основі патогенезу в будь-якому випадку лежить дисбаланс процесів кісткового ремоделювання [22].

Клінічна картина остеопорозу має різні прояви. У 50 % хворих першими клінічними проявами є переломи кісток без попередньої травми. В інших осіб найчастішими симптомами є біль у грудному і поперековому відділах хребта, що посилюється після помірного фізичного навантаження і пов'язаний із зміною біомеханіки хребта; відчуття важкості в міжлопатковій ділянці. Поступово зменшується зріст, при цьому розмах рук більше ніж на 3 см перевищує довжину тіла, з'являються кіфоз ("горб вдови") і кіфосколиоз, за рахунок вкорочення хребетного стовпа зменшується відстань між ребрами і тазовими кістками, в результаті цього виступає вперед живіт, збільшується внутрішньочеревний тиск. Тривалий біль, знерухомлення і пов'язана з цим зміна звичного стилю життя хворих з переломами призводять до розвитку психоемоційних порушень, найпоширенішим з яких є депресія. Більшість хворих з остеопорозом скаржаться на зниження працездатності, підвищену втомлюваність [2, 20, 21, 37, 38].

У виникненні остеопорозу важливу роль відіграють фактори ризику та їх поєднання у конкретної людини. Факторами ризику є:

1. Генетичні: етнічна приналежність (особи білої та азіатської рас); сімейна схильність; похилий вік; жіноча стать; низькі маса тіла і пік кісткової маси [33].

2. Гормональні: жіноча стать; рання менопауза; пізній початок менструацій; тривалі періоди аменореї до початку менопаузи; безпліддя; захворювання ендокринної системи, що призводять до дисфункції або дефіциту статевих гормонів; низький рівень тестостерону у чоловіків [31].

3. Стиль життя та особливості харчування: куріння; зловживання алкоголем; гіпокінезія; фізичне перевантаження; непереносимість молочних продуктів; низький вміст кальцію в продуктах споживання; анорексія або булімія; дефіцит вітаміну D [32].

4. Тривале використання медикаментів (глюкокортикоїдів, антикоагулянтів, діуретиків тощо).

5. Супровідні захворювання (ревматоїдний артрит, цукровий діабет, бронхіальна астма, вірусні гепатити, захворювання нирок тощо) [3, 5, 8, 34, 35, 36].

Фізіологія кісткової тканини та механізм розвитку остеопорозу

Кісткова тканина має органічний та неорганічний компоненти. В органічній частині (остеоїді) виділяють колагенову матрицю та неколагенові білки. Колаген I типу становить понад 95 % загального об'єму остеоїду. Серед основних неколагенових білків слід назвати остеокальцин, остеопектин, остеопонтин, сіалопротеїн. Гідроксиапатит є неорганічним компонентом. Він спочатку осідає на органічній матриці у вигляді солі гідроксифосфату кальцію і після цього перетворюється на кристали апатиту. В кістковій тканині виявлено різноманітну кількість інших іонів, таких, як карбонат, магній, натрій, кальцій і фтор, які також відіграють важливу структурну та метаболічну роль. Мінеральний компонент визначається як у компактній, так і в трабекулярній (губчастій) кістковій тканині. Він забезпечує цілісність кісткової тканини при механічному навантаженні та залишається метаболічно стійким за нормальних умов [24, 27, 40].

Клітинний склад кісткової тканини представлений остеобластами, остеоцитами та остеокластами. Основна функція остеокластів – це резорбція кісткового матриксу завдяки секреції лужної фосфатази та інших лізосомальних ферментів, тому маркером рівня резорбції кісткової тканини є вміст у крові лужної фосфатази. Остеобласти продукують остеоїд, що в подальшому мінералізується. Отже, в ремоделюванні кісткової тканини безпосе-

редню участь беруть її клітини – остеобласти, що продукують компоненти кісткового матриксу, та остеокласти, які відповідають за резорбцію. Структурна цілісність скелета підтримується безперервним процесом перебудови кістки, що відбувається в ділянках, відомих під назвою "ремоделювання". Початок активації процесу ремоделювання залежить від злущування покривних клітин, які утворюються з остеобластів та вистеляють усі поверхні кісток. На оголеній поверхні фіксуються одонуклеарні попередники остеокластів. Зливаючись між собою, вони утворюють диференційовані остеокласти. Активовані остеокласти резорбують незначний об'єм кісткової тканини, після чого заміщуються мононуклеарними клітинами, які сприяють підготовці лакунарних поверхонь до утворення нової кістки. Коли резорбція змінюється формуванням кісткової тканини, виділяється інсуліноподібний фактор росту II або трансформуючий фактор росту β . Після вивільнення ці фактори можуть стимулювати реплікацію та диференціацію остеобластів у ділянках резорбції. Нові остеобласти починають заповнювати порожнину органічним матриксом чи остеоїдом. Отже, основними клітинами, активність яких визначає ремоделювання, є остеокласти і остеобласти.

Порушення ремоделювання в бік збільшення кісткової резорбції і зниження утворення кісткової тканини розглядають як основну причину розвитку остеопорозу [7]. Втрата кісткової тканини відбувається у разі дисбалансу між резорбцією та формуванням кістки, оскільки остеокласти створили занадто великі порожнини або остеобласти не здатні синтезувати достатню кількість кісткової тканини, щоб заповнити ці порожнини. Швидкість втрати кістки залежить від різниці між її формуванням і резорбцією в кожному місці та від швидкості активації нових зон ремоделювання [14, 36].

Процес ремоделювання кісткової тканини генетично запрограмований і регулюється гормональними та локальними факторами. За Raisz і Kerman, фактори, що впливають на кісткову перебудову, поділяються на 4 групи. До першої групи належать кальцієрегулювальні гормони: паратгормон, кальцитонін та кальцитріол.

Паратгормон діє на кістку, нирки, шлунково-кишковий тракт: сприяє перетворенню остеобластів в остеокласти; активує остеобласти, що руйнують кісткову матрицю; посилює транспорт кальцію і фосфору у кров з кісткової тканини; пригнічує реабсорбцію кальцію, фосфатів та бікарбонатів у проксимальних канальцях, підвищує реабсорбцію кальцію в

дистальних ниркових каналцях; посилює розчинність гідроксиапатитів; в присутності вітаміну D_3 підвищує всмоктування кальцію; підвищує в нирках активність гідроксилази, під впливом якої відбувається синтез кальцитріолу, що посилює всмоктування кальцію в кишечнику.

Кальцитонін знижує остеокластичну активність та кількість остеобластів, що призводить до пригнічення кісткової резорбції; зменшує вміст кальцію і фосфору в крові, стимулює надходження кальцію в кістки; підвищує виділення кальцію, фосфору, калію, натрію, магнію, води з сечею; пришвидшує трансформацію неактивної форми вітаміну D_3 в активну у нирках.

Кальцитріол – активна похідна сполука вітаміну D_3 : підвищує всмоктування фосфатів та кальцію у тонкій кишці; допомагає синтезу колагену та мінералізації остеоїду в кістках, бере участь у диференціації остеокластів; збільшує всмоктування кальцію та фосфатів у нирках.

До другої групи належать соматотропний гормон, інсулін, глюкокортикоїди, статеві гормони, гормони щитоподібної залози.

Соматотропний гормон поліпшує діяльність остеобластів через специфічні рецептори і шляхом регуляції синтезу інсуліноподібного фактора росту I; сприяє утворенню оптимального рівня субстратів для росту організму (вуглеводів, жирів, амінокислот, мінеральних речовин); підвищує абсорбцію кальцію та фосфатів у кишечнику, всмоктування фосфатів у нирках.

Інсулін стимулює синтез компонентів кісткової матриці, активуючи остеобласти; бере участь у мінералізації кісткової тканини за рахунок активації утворення колагену й переходу амінокислот у кістку.

Глюкокортикоїди у фізіологічних концентраціях стимулюють синтез колагену остеобластами, при надлишку – зменшують темпи кальцифікації остеоїду; пригнічують активність остеобластів.

Статеві гормони естрогени пригнічують функціональну активність остеобластів, зменшують виділення лізосомальних ферментів, опосередковано обмежують секрецію остеобластами остеокластстимулювальних факторів; тестостерон знижує резорбцію кісткової тканини, пригнічує проліферацію остеобластів, посилює синтез колагену.

Гормони щитоподібної залози: сприяють процесам ремодулювання кісткової тканини; стимулюють остеобластичну та остеокластичну активність трабекулярної і кортикальної кісткової тканини.

Третю групу становлять паракринні фактори: інсуліноподібний фактор росту, тромбоцитарний фактор росту, фактор росту тромбоцитів, які впливають на резорбцію кісткової тканини.

До четвертої групи відносять локальні фактори, що продукуються самими кістковими клітинами: простагландин E_2 – пригнічує активність остеобластів, посилює кісткову резорбцію; інтерлейкіни – беруть участь у розвитку остеобластів, впливають на розвиток місцевих та системних запальних реакцій; остеокластстимулювальний фактор [25].

Вторинний остеопороз займає вагоме місце серед метаболічних остеопатій. Серед факторів ризику розвитку вторинного остеопорозу патологія нирок міститься далеко не на останньому місці. Це зумовлено тим, що нирки впливають на гомеостаз кальцію, фосфору, магнію і метаболізм вітаміну D, а кістки є органом-мішенню і місцем розщеплення кальційрегулювальних гормонів (паратиреоїдного) [26]. Прогресування ниркової патології супроводжується порушенням фосфорно-кальцієвого обміну і метаболізму вітаміну D_3 , що призводить до формування реальної остеодистрофії, яка, в свою чергу, значно погіршує якість життя, зумовлює інвалідизацію або посилює її прояви [10, 11, 39].

Діагностичні і клінічні прояви вторинного остеопорозу у хворих з патологією нирок визначаються, коли при перебізі захворювання розвивається ниркова недостатність, а ступінь вираження остеопорозу поглиблюється в міру прогресування хронічної ниркової недостатності [2, 30]. Згідно з даними В.І. Лузіна, на демінералізацію кісток впливає не саме захворювання, а лише видільна функція нирок, оскільки ознак демінералізації у хворих з хронічними гломерулонефритами і пієлонефритами не виявлено [11].

Відмічаються зміни в кістковій тканині хворих з патологією печінки, підшлункової залози, шлунка і кишечника. Найшвидші втрати кісткової маси відбуваються при автоімунному гепатиті та первинному біліарному цирозі печінки, оскільки ці захворювання вимагають проведення тривалої глюкокортикоїдної терапії імуносупресорними дозами. Відповідно, швидкість демінералізації кісткової тканини залежить від тривалості приймання глюкокортикоїдів і їх дози.

Розвиток остеопенії та остеопорозу при різних формах патології печінки пов'язаний з різним станом кісткового ремоделювання. Так, формування остеопорозу при хронічному вірусному цирозі й хронічному активному гепатиті

відбувається на тлі високого рівня кісткового обміну, при біліарному цирозі й холестатичному гепатиті – низького. Разом з цим, при хронічних захворюваннях печінки відзначається пригнічення процесів формування кісткової тканини поряд з незначною активацією резорбції. Вітамін D-рецепторний генотип є маркером прогресуючих втрат кісткової маси при біліарному й вірусному цирозах печінки. У розвитку демінералізації кісткової тканини при хронічній вірусній і біліарній патології печінки суттєву роль відіграють анаболічні чинники, зокрема інсуліноподібний фактор росту [13].

Особливістю остеопенічних станів при ревматоїдному артриті є поступове прогресування процесу з розвитком остеопорозу, відсутністю явної клінічної симптоматики до розвитку патологічних переломів як перших проявів захворювання. Як і при первинному остеопорозі, при ревматоїдному артриті на зниження мінеральної щільності кістки впливають генетична схильність до захворювання, вік, стать, будова тіла, національність, шкідливі звички, інтенсивність функціонування м'язової системи й інші чинники [12, 35]. За даними Є.А. Якименка, секреція і активність цитокінів, наприклад інтерлейкіну-6, визначають розвиток остеопорозу при ревматоїдному артриті, проте структурно-функціональні порушення при даному захворюванні характеризуються гетерогенністю і не піддаються однозначному трактуванню [4, 16]. Метаболічні остеопатії виявляють і у хворих на анкілозуючий спондилоартрит. Причиною цього є порушення процесу синтезу колагену, механізмів ремоделювання кісткової тканини [29].

Зміни функціональної активності щитоподібної залози при її захворюваннях впливають фактично на всі органи та системи організму.

При дифузному токсичному зобі відмічаються зниження рівня іонізованого кальцію в крові, підвищення добової екскреції кальцію і фосфору з сечею внаслідок активації катаболізму в кістковій тканині, що спричинена гіперпродукцією тиреоїдних гормонів [28]. На думку багатьох учених, класична рентгенологічна семіотика змін, яка спостерігається в кістковій тканині хворих на тиреотоксикоз та гіпотиреоз, не відрізняється від остеопорозу [17, 19].

Метаболічні зміни, які виникають при цукровому діабеті, призводять до порушення процесів ремоделювання кісткової тканини. Недостатність інсуліну може спричинити розвиток остеопорозу внаслідок порушення протеогліканового складу кістки й хряща. При I типі цукрового діабету провідну роль відіграють метаболічні порушення в результаті декомпенсації захворювання. У хворих з II типом цукрового діабету дефіцит інсуліну та декомпенсація цукрового діабету також призводять до розвитку остеопенії, але разом з рядом інших чинників, які можуть впливати на стан кісткової тканини [23].

У даний час проблема остеопорозу у хворих на бронхіальну астму залишається актуальною. Існує декілька чинників, що призводять до його розвитку. Найважливішим є приймання пероральних і парентеральних глюкокортикоїдів. Крім того, на розвиток остеопорозу впливає підвищене продукування цитокінів, а також гормональна перебудова організму в період менопаузи [1, 19, 41].

Таким чином, проблема метаболічних остеопатій є актуальною, оскільки вони сягають масштабів епідемії, що спонукає до глибших досліджень. Особливої уваги потребує поліпшення профілактики первинного та вторинного остеопорозу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Баранова И.А., Гаджиев К.З., Чучалин А.Г. Остеопороз у больных бронхиальной астмой // Терапевт. арх. – 2000. – № 4. – С. 6-13.
2. Білозецька-Смян С.І., Швед М.І., Грималюк Н.Є. та ін. Остеопороз: епідеміологія, клініка, діагностика, профілактика та лікування // Зб. матеріалів II Української науково-практичної конференції, 28-30 травня 1997 р. – К., 1997. – С. 58-60.
3. Вишневська Н.Ю. Гострі гепатити В і С та остеопороз // Інфекційні хвороби. – 2000. – № 4. – С. 49-52.
4. Головач І.Ю. Ревматоїдний артрит та остеопороз: вплив активності запального процесу та тривалості перебігу захворювання // Прак. медицина. – 1999. – Ч. 1-2 (15-16). – С. 70-74.
5. Головач І.Ю., Нейко Е.М., Поворознюк В.В.

Структурно-функціональна характеристика кісткової тканини у хворих на ревматоїдний артрит // Укр. мед. часопис. – 2000. – № 2. – С. 151-154.

6. Егоров В.В., Ли Д.К. Современные методы и аппаратура для денситометрии костной ткани: Обзор // Мед. техника. – 1995. – № 2. – С. 30-35.

7. Клубова А.Ф., Гавриленко Т.И., Дейкун А.И. и др. Апоптоз и остеопороз // Укр. ревматолог. журнал. – 2000. – № 1. – С. 19-22.

8. Коваленко В.М., Борткевич О.П. Вторичный остеопеничный синдром при выбранных ревматических заболеваниях: взгляд на проблему // Врач. практика. – 2001. – № 4. – С. 22-28.

9. Кулакович Ю.Н., Латишь В.Д., Юрьева О.С. Остеопороз: диагностика и новые методы лечения // Журн. практ. лікаря. – 2002. – № 5. – С. 34-40.

10. Лузин В.И., Бурмак Ю.Г. Влияние заболеланий почек различной этиологии на состояние костной системы // Пробл. остеології. – 2001. – 4, № 1-2. – С. 94-96.

11. Марова Е.И. Классификация остеопороза // Остеопороз и остеопатии. – 1998. – № 1. – С. 8-12.

12. Масик О.М., Сміян С.І. Застосування кальцитоніну в лікуванні остеопорозу // Лікар. справа. – 2000. – № 3-4. – С. 15-18.

13. Митник З.М., Головач Є.Ю. Вторичный остеопороз у практиці лікаря- гастроентеролога: патогенетичні механізми виникнення та можливості лікування й профілактики // Пробл. остеології. – 2001. – 4, № 1-2. – С. 105-106.

14. Насонов Е.Л. Проблемы остеопороза: изучение биохимических маркеров костного метаболизма // Клинич. медицина. – 1998. – № 5. – С. 20-24.

15. Науково-медичний проблемний центр: організація, діяльність, перспектива / досвід Українського науково-дослідного медичного центру проблем остеопорозу // Журн. практ. лікаря. – 2000. – № 4. – С. 2-3.

16. Нейко Є.М., Головач І.Ю. Фактори ризику розвитку ревматоїд- асоційованої остеопенії // Пробл. остеології. – 2001. – 4, № 1-2. – С. 108-109.

17. Олійник В.А., Поворознюк В.В., Теренова Г.М. Структурно-функціональний стан кісткової тканини у хворих з патологією щитовидної залози // Пробл. остеології. – 2001. – 4, № 1-2. – С. 114-115.

18. Остеопороз: епідеміологія, клініка, діагностика, профілактика і лікування / Под ред. Н.А. Корж, В.В. Поворознюк, Н.В. Дедух, І.А. Зупонец. – Х.: Золотые страницы, 2002. – 646 с.

19. Перцева Т.А., Гладгун Т.В. Остеопороз у больных бронхиальной астмой // Пробл. остеології. – 2001. – 4, № 1-2. – С. 115-116.

20. Поворознюк В.В. Міжнародна декада захворювань кісток та суглобів: участь української асоціації остеопорозу // Журн. практ. лікаря. – 2003. – № 3. – С. 2-9.

21. Поворознюк В.В. Остеопороз у населения Украины // Здоровье и питание. – 1998. – № 2. – С. 8-11.

22. Поворознюк В.В. Ультразвуковая денсито-

метрия в оценке структурно-функционального состояния костной ткани // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2001. – № 1. – С. 112-133.

23. Поворознюк В.В., Орленко В.Л. Стан кісткової тканини у хворих на цукровий діабет // Пробл. остеології. – 2001. – 4, № 1-2. – С. 127-128.

24. Подрушняк Е.П. Остеопороз – проблема века. – Симферополь, 1997. – 216 с.

25. Проблеми остеопорозу / За ред. Л.Я. Ковальчука. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – 446 с.

26. Рапопорт С.И., Малиновская Н.К., Вознесенская И.А. и др. Остеопороз как проблема в клинике внутренних болезней // Клинич. медицина. – 2000. – № 3-4. – С. 49-52.

27. Рожинская Л.Я. Остеопороз: диагностика нарушенной метаболизма костной ткани и кальций-фосфатного обмена // Клиническая, лабораторная диагностика. – 1998. – № 5. – С. 25-32.

28. Рубин М.П., Чечурин Р.Е., Зубова О.М. Остеопороз: диагностика, современные подходы к лечению, профилактика // Терапевт. арх. – 2002. – № 1. – С. 32-36.

29. Склярченко Є.Г., Герасименко С.І., Полулях М.В. Стан кісткової тканини у хворих на анкілозуючий спондилоартрит // Пробл. остеології. – 2001. – 4, № 1-2. – С. 145-146.

30. Сміян С.І., Дячан Л.П., Мартинюк Л.П. Діагностика порушень мінеральної щільності кісткової тканини у хворих із хронічною нирковою недостатністю // Пробл. остеології. – 2001. – 4, № 1-2. – С. 148-149.

31. Сміян С.І., Масик О.М. Проблема змін мінеральної щільності кісткової тканини у чоловіків з позиції статевого диморфізму // Укр. ревматол. журн. – 2001. – № 1. – С. 23-26.

32. Франке Ю., Рунге Г. Остеопороз: Пер. с нем. – М.: Медицина, 1995. – 304 с.

33. Ченский А.Д., Гаркава А.В. Остеопороз // Мед. помощь. – 1998. – № 4. – С. 32-35.

34. Швець Н.И. Остеопороз: возраст, пол, питание и хрупкость костей // Здоровье и питание. – № 2. – С. 14-16.

35. Якищенко Е.А., Дець В.В. Патогенические особенности остеопороза у больных ревматоидным артритом // Лік. справа. – 2002. – № 1. – С. 15-19.

36. Bleisher M. Osteoporosis // The Place of Miocalcic Atlas. – 1997. – 52 p.

37. Broll H. Consensus Statement: Osteoporosis, Classification and Clinical Features // Rheumatol. Eur. – 1996. – 25, № 1. – P. 33-36.

38. Hozowski K. Clinical diagnosis of osteoporosis // Przegl. Len. – 1997. – 54, № 4. – P. 215-219.

39. Reid D.M., Harvie J. Secondary osteoporosis // Bailliers Clin. Endocrin. Metabol. – 1997. – № 4. – P. 83-89.

40. Prestwood K.M., Kenny A.M. Osteoporosis: pathogenesis, diagnosis and treatment in older adults // Clin. Geriatr. Med. – 1998. – 3, № 3. – P. 577-579.

41. McLeod J.F. Osteoporosis, cytokines, and glucocorticoids // Allergy Proc. – 1993. – 14, № 5. – P. 363-364.

МЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОБЛЕМЫ ОСТЕОПОРОЗА

С.М. Андрейчин, М.И. Швалюк

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

В обзоре литературы на основании современных сведений обсуждаются механизмы развития остеопороза, влияние гормональных и локальных факторов на костную перестройку, роль разных заболеваний в становлении и прогрессировании вторичных метаболических остеопатий.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **остеопороз, костная ткань, гормоны.**

MEDICAL ASPECTS OF THE PROBLEM OF OSTEOPOROSIS

S.M. Andreychyn, M.I. Shvalyuk

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

This literature review presents current information on mechanisms of development of osteoporosis, influence of hormonal and local factors on bone reorganization, the role of different diseases on the formation and progressing of secondary metabolic osteopathies.

KEY WORDS: **osteoporosis, osteal tissue, hormones.**

Отримано 11.02.2004 р.

Адреса для листування: С.М. Андрейчин, вул. С. Бандери, 92, кв. 104, Тернопіль, 46013, Україна.