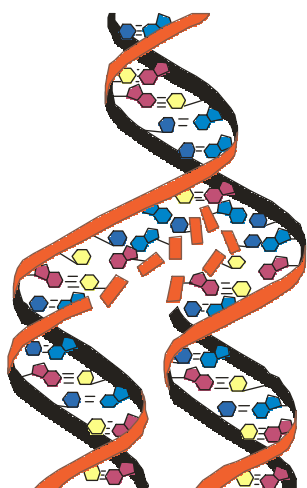


*Академія медичних наук України
Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського
Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця
Українська Академія наук національного прогресу*

МЕДИЧНА ХІМІЯ

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ



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

MEDICAL CHEMISTRY

2 TOM 6
2004

SCIENTIFIC JOURNAL

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

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

МЕДИЧНА ХІМІЯ

Науковий журнал

MEDICAL CHEMISTRY

Scientific Journal

ISSN 1681-2557

Виходить з 1999 року
Published since 1999

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

Передплатний індекс: 22869
Subscription index: 22869

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

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

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

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

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

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

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

Зміст

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Губський Ю.І., Гаєва Л.В., Бобкова Л.С., Васильченко О.А. (Київ) ВИВЧЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ ОКИСНЕННЯ ВІТАМІНІВ ГРУПИ В6 КВАНТОВО-ХІМІЧНИМИ МЕТОДАМИ

5

Ткаченко Г.М., Кургалюк Н.М., Кордунська О.Є. (Львів) ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ КАТФ-КАНАЛІВ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН МІТОХОНДРІЙ ПЕЧІНКИ МУРЧАКІВ ЗА АДРЕНАЛІНОВОЇ МІОКАРДІОДИСТРОФІЇ

11

Білоостоцька Л.І., Гомон О.М., Чайка Л.О., Нікітченко Ю.В., Бондар В.В. (Харків) ДОСЛІДЖЕННЯ ЦИТОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ ВІНПОЦЕТИНУ НА МОДЕЛІ ТОТАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ МОЗКУ ЩУРІВ IN VITRO

17

Вринчану Н.О. (Київ) АНТИБАКТЕРІАЛЬНА АКТИВНІСТЬ 4-(АДАМАНТИЛ-1)-1-(1-АМІНОБУТИЛ)БЕНЗОЛУ ВІДНОСНО ПРЕДСТАВНИКІВ РОДИНИ ENTEROBACTERIACEAE

22

Юкало В.Г. (Тернопіль) УТВОРЕННЯ АНТИГІПЕРТЕНЗИВНИХ ПЕПТИДІВ ПІД ЧАС ПРОТЕОЛІЗУ БІЛКІВ СИРУ

26

Краснобрижа Є.М., Савчук О.М., Волков Г.Л. (Київ) ФІБРИНОЛІТИЧНИЙ ПОТЕНЦІАЛ ПЛАЗМИ КРОВІ

30

Давидова Н.В., Мещишен І.Ф. (Чернівці) ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ РОДІОЛИ РІДКОГО НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ІНТОКСИКАЦІЇ ТЕТРАХЛОРОМЕТАНОМ

35

Мудра А.Є. (Тернопіль) ПОКАЗНИКИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ТА МЕТАБОЛІЧНОЇ АКТИВНОСТІ У ПЕЧІНЦІ КОРОПА ЗА ДІЇ НА ОРГАНІЗМ ТОКСИЧНОЇ КОНЦЕНТРАЦІЇ ІОНІВ МІДІ ТА ЦИНКУ

39

Зупанець І.А., Попов С.Б., Шебеко С.К., Отришко І.А. (Харків) ВИВЧЕННЯ МЕХАНІЗМУ ПОТЕНЦІЮВАННЯ ДИКЛОФЕНАКУ НАТРІЮ АМІНОЦУКРОМ ГЛЮКОЗАМІНОМ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНИХ ЗОНДІВ

43

Гришук Л.А. (Тернопіль) ЗМІНИ КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНИХ ПОКАЗНИКІВ У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ З ГЕМОРАГІЧНИМИ УСКЛАДНЕННЯМИ І СУПРОВІДНИМ УРАЖЕННЯМ ГЕПАТОБІЛІАРНОЇ СИСТЕМИ

48

Зупанець І.А., Бездітко Н.В. (Харків) ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ, ІНДОМЕТАЦИНУ ТА ДИКЛОФЕНАКУ НАТРІЮ НА ПРОСТАГЛАНДИНОВУ РЕАКЦІЮ ОКА І ВМІСТ ЕЙКОЗАНОЇДІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ

53

Тєфтьєєва Н.Б. (Чернівці) ВПЛИВ НАСТОЙКИ ПЕРСТАЧУ ПРЯМОСТОЯЧОГО НА ПОКАЗНИКИ БІЛКОВОГО ТА ЛІПІДНОГО ОБМІНУ КРОВІ ЩУРІВ

58

Contents

ORIGINAL INVESTIGATIONS

Gubsky Yu.I., Gayeva L.V., Bobkova L.S., Vasylychenko O.A. (Kyiv) STUDY OF GROUP B6 VITAMINS OXIDATION FEATURES BY QUANTUM-CHEMICAL METHODS

5

Tkachenko G.M., Kurhalyuk N.M., Kordunska O.Y. (Lviv) INFLUENCE OF KATP-CHANNEL MODULATORS ON FUNCTIONAL STATE OF GUINEA PIG LIVER MITOCHONDRIA UNDER ADRENALINE MIOCARDIODYSTROPHY

11

Bilostotska L.I., Gomon O.M., Chaika L.O., Nikitchenko Yu.V., Bondar V.V. (Kharkiv) THE RESEARCH OF VINPOCETINE CYTOPROTECTIVE EFFECT UNDER THE RAT BRAIN TOTAL ISCHEMIA MODEL IN VITRO

17

Vrynchanu N.O. (Kyiv) ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF 4-(ADAMANTILE-1)-1-(1-AMINOBUTYL)BENZENE WITH RESPECT TO REPRESENTATIVES OF ENTEROBACTERIACEAE FAMILY

22

Yukalo V.G. (Ternopil) PRODUCTION OF ANTIHYPERTENSIVE PEPTIDES DURING THE PROTEOLYSIS OF CHEESE PROTEINS

26

Krasnobryzha Y.M., Savchuk O.M., Volkov H.L. (Kyiv) FIBRINOLYTIC POTENTIAL OF BLOOD PLASMA

30

Davydova N.V., Meshchyshen I.F. (Chernivtsi) THE EFFECT OF RHODIOLA ROSEA LIQUID EXTRACT ON THE LIVER FUNCTIONAL STATE UNDER CONDITIONS OF TETRACHLOROMETHANE INTOXICATION

35

Mudra A.Ye. (Ternopil) INDICES OF ANTIOXIDATIVE PROTECTION AND METABOLIC ACTIVITY IN THE LIVER OF CARP AT ACTION ON THE ORGANISM OF TOXIC CONCENTRATION OF COPPER AND ZINC IONS

39

Zupanets I.A., Popov S.B., Shebeko S.K., Otrishko I.A. (Kharkiv) STUDYING OF POTENTIATION MECHANISM OF DICLOFENAC SODIUM BY AMINOSUGAR GLUCOSAMINE WITH FLUORESCENT PROBES METHOD

43

Hryshchuk L.A. (Ternopil) CHANGES OF CLINICAL AND LABORATORY INDICES IN PULMONARY TUBERCULOSIS PATIENTS WITH HEMORRHAGIC COMPLICATIONS AND ACCOMPANIED LESIONS OF HEPATOBILIARY SYSTEM

48

Zupanets I.A., Bezditko N.V. (Kharkiv) STUDY OF GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE, INDOMETHACIN AND DI-CLOFENAC SODIUM INFLUENCE ON PROSTAGLANDIN EYE REACTION AND EICOZANOID CONTENT IN BLOOD SERUM

53

Teftuyeva N.B. (Chernivtsi) INFLUENCE OF POTENTILLA TORMENTILLA TINCTURE ON THE INDICES OF PROTEIN AND LIPID METABOLISM IN RAT BLOOD

58

КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

- Оленович О.А.* (Чернівці) ХАРАКТЕРИСТИКА ЗМІН ІНТЕНСИВНОСТІ І СТРУКТУРИ ФІБРИНОЛІЗУ У ТВАРИН З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ГІПЕРТИРЕОЗОМ
- Хара М.Р.* (Тернопіль) ВПЛИВ КАСТРАЦІЇ НА ВМІСТ ТА ФЕРМЕНТАТИВНИЙ ГІДРОЛІЗ АЦЕТИЛХОЛІНУ ПРИ АДРЕНАЛІНОВІЙ МІОКАРДІОДИСТРОФІЇ У ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ
- Вороніна Л.М., Кравченко В.М.* (Харків) ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ СПОЛУКИ З АНТИТИРЕОЇДНОЮ ДІЄЮ НА ЕНЕРГЕТИЧНЕ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ МІОКАРДА ПРИ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОМУ СТРЕСІ
- Яремій І.М.* (Чернівці) СТАН ГЛУТАТІОНОВОЇ СИСТЕМИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ІНТОКСИКАЦІЇ ЇХ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ ТА ДІЇ ЕКСТРАКТІВ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН
- Покотило О.С.* (Тернопіль) ВПЛИВ ПОЛІЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ РОДИН n-3 І n-6 НА СИНТЕЗ БІЛКІВ IN VITRO У ТКАНИНАХ ЩУРІВ ПРИ ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЇ
- Сопель О.М.* (Тернопіль) ПОРУШЕННЯ ПРОЦЕСІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА ОКИСНЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ У НИРКАХ І КРОВІ ПРИ ОТРУЄННІ БЛІДОЮ ПОГАНКОЮ

ОГЛЯДИ

- Шкаволяк А.В., Влох І.Й.* (Львів) ШЛЯХИ ТРАНСПОРТУВАННЯ ЛІТІУ В КЛІТИНАХ ССАВЦІВ
- Андрейчин С.М., Швалюк М.І.* (Тернопіль) КОНЦЕПЦІЇ ПАТОГЕНЕЗУ ХРОНІЧНОЇ СЕРЦЕВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

МЕТОДИ БІОХІМІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

- Коржова А.С.* (Запоріжжя) ЗАСТОСУВАННЯ 4-НІТРОБЕНЗОІЛГІДРАЗОН-1,4-БЕНЗОХІНОНОКСИМУ ДЛЯ АНАЛІЗУ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМ З КОФЕЇН-БЕНЗОАТОМ НАТРІЮ
- Медведєва Ю.П., Бондар В.С.* (Харків) ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ МЕТОДІВ ІЗОЛЮВАННЯ ДИЛТІАЗЕМУ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ
- Ведерникова І.О., Левітін Є.Я., Онопрієнко Т.О., Онопрієнко В.Г., Матюшкін Е.В.* (Харків) ВИВЧЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ МАЗІ НА ГІДРОФІЛЬНИЙ ОСНОВІ З МАГНЕТИТОВИМ КОМПОНЕНТОМ

BRIEF REPORTS

- Olenovych O.A.* (Chernivtsi) THE CHARACTERISTIC OF CHANGES AND STRUCTURE OF FIBRINOLYSIS IN RATS WITH EXPERIMENTAL HYPERTHYREOSIS 62
- Khara M.R.* (Ternopil) CASTRATION INFLUENCE ON THE LEVEL AND ACETYLCHOLINE ENZYME HYDROLYSIS IN DIFFERENT SEX RATS AT ADRENALINE MYOCARDYODISTROPHY 65
- Voronina L.M., Kravchenko V.M.* (Kharkiv) INVESTIGATION OF THE INFLUENCE OF THE COMPOUND WITH ANTITHYROID ACTION ON PROVIDING MIOCARDIUM WITH ENERGY UNDER IMMOBILIZING STRESS 68
- Yaremiy I.M.* (Chernivtsi) STATE OF GLUTATHIONE SYSTEM OF RAT LIVER IN CONDITIONS OF THEIR INTOXICATION BY TETRACHLORMETHANE AND EFFECT OF EXTRACTS OF MEDICAL PLANTS 71
- Pokotylo O.S.* (Ternopil) INFLUENCE OF POLYUNSATURATED FATTY ACIDS OF FAMILY n-3 AND n-6 ON PROTEIN SYNTHESIS IN VITRO IN TISSUES OF RATS AT HYPERCHOLESTEROLEMIA 74
- Sopel O.M.* (Ternopil) ALTERATIONS OF LIPID PEROXIDATION AND PROTEIN OXIDATIVE MODIFICATION PROCESSES IN KIDNEYS AND BLOOD AT AMANITA-PHALLOIDES INTOXICATION 77

REVIEWS

- Shkavoliak A.V., Vloch I.Y.* (Lviv) TRANSPORT PATHWAYS FOR LITHIUM THROUGH MAMMALIAN CELLS 81
- Andreychyn S.M., Shvalyuk M.I.* (Ternopil) CONCEPTS OF PATHOGENESIS OF CHRONIC HEART FAILURE 90

METHODS OF BIOCHEMICAL INVESTIGATIONS

- Korzhova A.S.* (Zaporizhzhia) 4-NITROBENZOILHYDRAZON-1,4-BENZOQUINONOXYM APPLICATION FOR THE ANALYSIS OF QUALITY OF DRUGS CONTAINING CAFFEINE-SODIUM BENZOATE 93
- Medvedeva Y.P., Bondar V.S.* (Kharkiv) INVESTIGATION OF EFFICIENCY OF DILTIAZEM ISOLATION METHODS FROM BIOLOGICAL MATERIAL 97
- Vedernykova I.O., Levitin Ye.Ya., Onopriyenko T.O., Onopriyenko V.G., Matyushkin E.V.* (Kharkiv) THE STUDY OF PROPERTIES OF THE OINTMENT ON THE HYDROPHILIC BASE WITH THE MAGNETITIC COMPONENT 101

ВИВЧЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ ОКИСНЕННЯ ВІТАМІНІВ ГРУПИ В₆ КВАНТОВО-ХІМІЧНИМИ МЕТОДАМИ

Ю.І. Губський¹, Л.В. Гаєва, Л.С. Бобкова, О.А. Васильченко
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ¹
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, КИЇВ

За допомогою квантово-хімічних розрахунків визначено енергії окиснення вітамінів групи В₆ – піридоксину, піридоксалу, піридоксаміну та їх фосфорильованих похідних – до вільних радикалів. Проведено кількісне порівняння можливості реалізації різних напрямків цього процесу. Встановлено, що найлегше утворюються радикали на атомах вуглецю гідрокси- та амінометильної груп. Показано також, що вітаміни групи В₆ та ізоніазид характеризуються близькими та низькими значеннями енергії утворення відповідних радикалів із нейтральних молекул. Їх висока антиоксидантна активність, імовірно, свідчить про можливість радикального механізму їх дії в організмі.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: піридоксин, піридоксаль, піридоксамін, ізоніазид, окиснення, радикали, квантово-хімічні розрахунки.

ВСТУП. Як відомо, вітаміни групи В₆ – піридоксин (1), піридоксаль (2) та піридоксамін (3) – здатні суттєво посилювати протитуберкульозну дію ізоніазиду [3-5] та зменшувати його токсичність [2, 8]. Розглядаючи можливі молекулярні механізми сумісної дії вітамінів групи В₆ та ізоніазиду, треба відзначити, що всі вони проявляють антиоксидні властивості [1, 7, 9, 10]. Наявність у молекулі ізоніазиду (6) незаміщеної гідразидної групи зумовлює не тільки її сильні лужні та нуклеофільні властивості, але й виражену антиоксидну дію. Один із можливих молекулярних механізмів дії ізоніазиду (6) полягає у взаємодії з ферментом-окисником – оксидазою [6, 10-13, 15].

Для подальшого прогнозування молекулярних перетворень цих сполук важливим є визначення в них конкретних функціональних груп, на яких саме відбувається первинний процес окиснення. Як відомо, легкість утворення вільного радикала залежить, з одного боку, від міцності зв'язку між атомом водню та пов'язаним з ним другим атомом, а з іншого – від легкості делокалізації неспареного електрона в утвореному радикалі. Квантово-хімічними методами можна розрахувати енергію утворення ($E_{\text{ув.}}$), яку необхідно застосувати

зовні, щоб отримати відповідний вільний радикал. Очевидно, чим менша ця енергія, тим легше буде утворюватись такий радикал. Порівнюючи ці енергії для всіх водневмісних функціональних груп молекул вітамінів групи В₆, можна визначити, який саме радикал найлегше і перш за все утворюватиметься, а також, наскільки відрізняється його енергія утворення від енергії утворення інших можливих радикалів. Оскільки вітаміни групи В₆ в організмі перебувають в основному у вигляді фосфорильованих похідних – піридоксинфосфату (1.1), піридоксальфосфату (2.1) та піридоксамінфосфату (3.1), то для порівняння було проведено аналогічні розрахунки і для них.

На рисунку 1 показано хімічні формули вихідних нейтральних молекул – вітамінів групи В₆ (1-3, 1.1, 2.1, 3.1). Рисунок 2 демонструє будову молекул – продуктів конденсації ізоніазиду (6) з піридоксалем (2) та піридоксальфосфатом (2.1) (4, 5 відповідно). Жирним шрифтом позначено атоми водню, для яких розраховано енергії їх окиснення до відповідних вільних радикалів. Номер біля такого атома водню відповідає номеру вільного радикала, утвореного з нього і позначеного в табл. 1, 2.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. За допомогою спеціалізованої програми "HyperChem rel. 7"

[14] було розраховано енергетичні характеристики (поглинання енергії) в процесі утворення вільних радикалів із нейтральних молекул. Для цього спочатку проводили оптимізацію кожної молекули або радикала за алгоритмом Парра-Паризера-Попла (PM3) з використанням необмеженого методу Хартлі-Фока (UHF), в ході якої молекула досягає свого найнижчого енергетичного рівня. Потім для оптимізованої молекули розраховували її енергію зв'язування ($E_{зв.}$), тобто енергію, яку треба застосувати зовні для того, щоб перетворити молекулу на сукупність ізольованих атомів. Далі, порівнюючи енергії зв'язування кінцевих продуктів реакції (вільних радикалів) з вихідною молекулою, розраховували енергію утворення радикала ($E_{утв.}$) в ході процесу. Знак "мінус" свідчить про те, що енергія виділяється в ході процесу, а "плюс" – відповідно, поглинається зовні.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати проведених розрахунків наведено в таблицях 1 та 2.

Як видно з наведених таблиць, енергії утворення різноманітних вільних радикалів із нейтральних молекул коливаються майже у два рази (від 65,08 до 113,79 ккал/моль). Виявилося, що найлегше утворюються вуглецьцентровані радикали з гідрокси- та амінометильної груп, зв'язаних з піридиновим циклом (1.6, 1.7, 2.6, 3.6 та 3.7; $E_{утв.}$ = 66,30-68,86 ккал/моль). За рахунок ефективної взаємодії неспареного електрона з π -електронною системою ароматичного кільця та гетероатомів – кисню та азоту відбувається його делокалізація по всій молекулі, що суттєво знижує $E_{утв.}$ радикала. Гідроксиметильний радикал, отриманий із піридоксину (1) і розташований у *мета*-положенні (1.7), виявився стійкішим до атома азоту (1.6) ніж аналогічний радикал у *пара*-положенні, ($E_{утв.}$ = 66,30 та 66,51 ккал/моль відповідно). Заміна однієї гідроксильної групи в *пара*-положенні радикала (1.7) на альдегідну (радикал 2.6; $E_{утв.}$ = 66,51 ккал/моль), а потім на амінну групи (радикал 3.7) призводить до помітного збільшення енергії утворення відповідного радикала ($E_{утв.}$ = 68,86 ккал/моль). Якщо порівнювати між собою гідрокси- (1.6) та амінометильний (3.6) радикали, то видно, що аміногрупа сприяє утворенню стійкішого радикала ($E_{утв.}$ = 66,51 та 65,62 ккал/моль відповідно).

Окиснення Н-О-зв'язку в гідроксильній групі потребує набагато більшої енергії (радикали 1.2, 1.3, 2.3 та 3.3; $E_{утв.}$ = 92,29-95,31 ккал/моль) і тому малоімовірно. Аміногрупа в аналогічній ситуації окиснюється значно легше

(радикал 3.2; $E_{утв.}$ = 84,30 ккал/моль). Гідроксильна група, спряжена з ароматичним фрагментом (радикали 1.4, 2.4 та 3.4), як і слід було очікувати, гомолізується ще легше ($E_{утв.}$ = 76,05, 81,67 та 75,68 ккал/моль відповідно). При цьому електроноакцепторна альдегідна група збільшує $E_{утв.}$ радикала (2.4), а електронодонорна аміногрупа (3.4) зменшує її. Можливість делокалізації неспареного електрона по ароматичному ядру зумовлює в цілому відносну легкість утворення феноксильних радикалів, але, залежно від інших замісників у циклі, вона може коливатись у широких межах. Для порівняння, окиснення фенолу потребує 77,03 ккал/моль, а відомого антиокисника іонулу – 74,76 ккал/моль.

Цікаво відмітити, що метильна група, спряжена з піридиновим кільцем, також може досить легко окиснюватись (радикали 1.5, 2.5 та 3.5; $E_{утв.}$ = 77,08, 77,79 та 77,03 ккал/моль відповідно). Цей процес потребує енергії не набагато більше, ніж для окиснення фенолів. Найважче окиснюється атом водню, безпосередньо приєднаний до ароматичного кільця (радикали 1.8, 2.7 та 3.8; $E_{утв.}$ = 98,02, 94,51 та 97,94 ккал/моль відповідно), через неможливість делокалізації неспареного електрона по ароматичній групі, а також міцність С-Н-зв'язку.

Введення фосфорильної групи до молекул піридоксину (1.1), піридоксалу (2.1) та піридоксаміну (3.1) помітно полегшує утворення найбільш вигідних радикалів (1.12, 2.11 та 3.12; $E_{утв.}$ = 65,82, 65,55 та 65,79 ккал/моль відповідно). Порівняно з нефосфорильованими сполуками цей виграв енергії складає 0,48 0,96 та 3,07 ккал/моль відповідно. Щодо інших вивчених радикалів на основі фосфорильованих похідних вітамінів групи B_6 , то простежується аналогічна залежність – енергія утворення фосфорильованих радикалів є меншою, ніж енергія утворення відповідних нефосфорильованих радикалів. Найбільшою енергії потребує гомоліз Н-О-зв'язку в фосфорильній групі. Ця величина є майже сталою для всіх фосфорильованих похідних вітамінів групи B_6 і становить 113,38-113,79 ккал/моль.

Розрахунки показали, що ізоніазид (6) ($E_{утв.}$ = 66,81 ккал/моль) окиснюється по амідному атому азота майже з такою ж легкістю, що і вітаміни групи B_6 . Імовірно, це не випадковий збіг і якимось чином пов'язано з молекулярними механізмами їх сумісної дії.

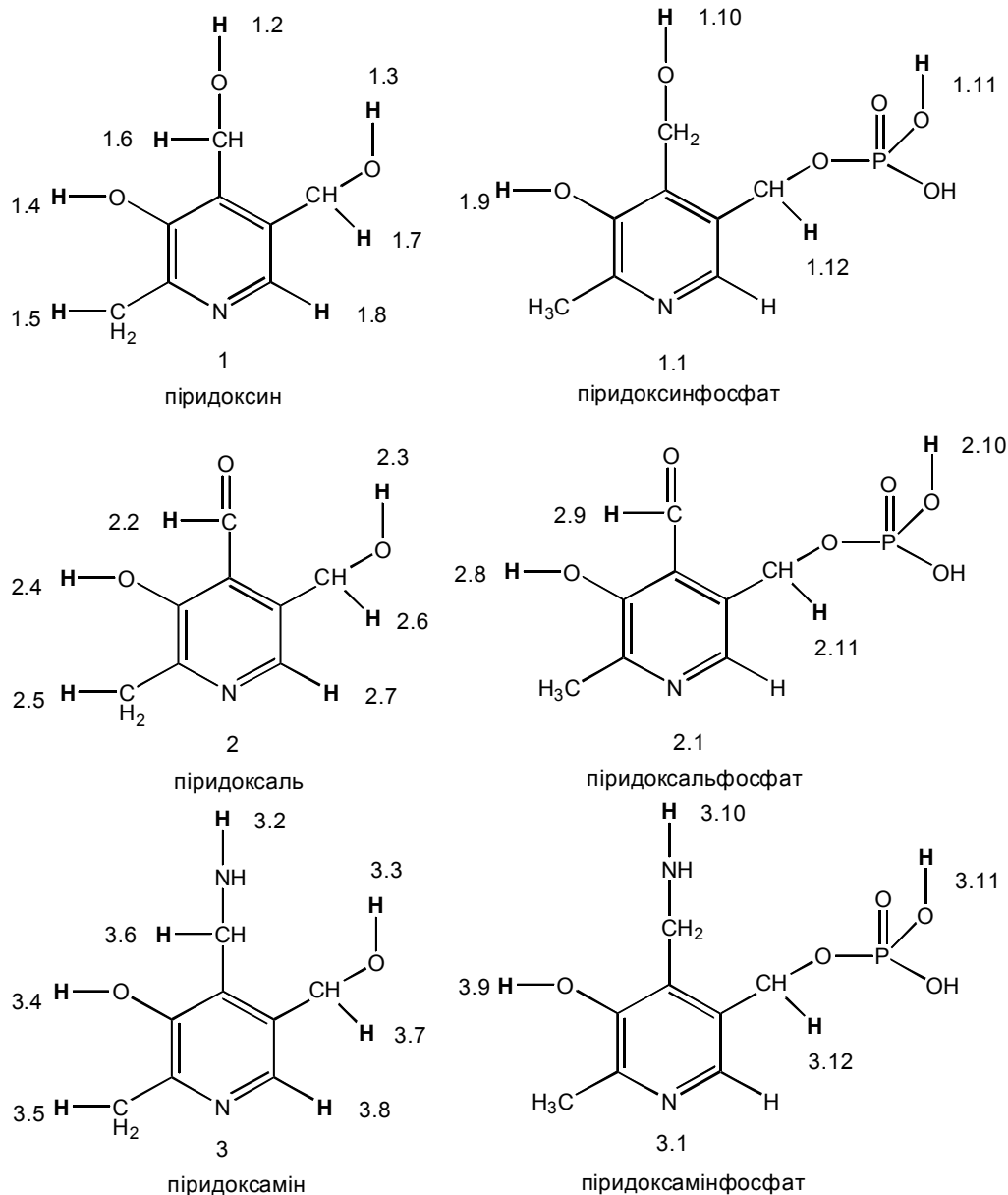
Піридоксаль (2), який має у своєму складі альдегідну групу, може безпосередньо реагувати з ізоніазидом (6) з утворенням основи Шифа (4). У цьому сенсі цікаво оцінити анти-

Таблиця 1 – Енергії зв'язування досліджуваних сполук

Сполука	Енергія зв'язування, ккал/м	Сполука	Енергія зв'язування, ккал/м
Піридоксин (1)	-2350,21	Радикал (2.7)	-2135,88
Піридоксинфосфат (1.1)	-2860,61	Радикал (2.8)	-2664,24
Піридоксаль (2)	-2230,40	Радикал (2.9)	-2665,97
Піридоксальфосфат (2.1)	-2740,58	Радикал (2.10)	-2626,78
Піридоксамін (3)	-2409,08	Радикал (2.11)	-2675,02
Піридоксамінфосфат (3.1)	-2920,12	Радикал (3.2)	-2324,77
Гідразон (4)	-3787,25	Радикал (3.3)	-2313,76
Гідразон (5)	-4297,85	Радикал (3.4)	-2333,40
Ізоніазид (6)	-1771,31	Радикал (3.5)	-2332,04
Атом водню	-0,01	Радикал (3.6)	-2343,45
Радикал (1.2)	-2255,26	Радикал (3.7)	-2340,22
Радикал (1.3)	-2255,32	Радикал (3.8)	-2311,13
Радикал (1.4)	-2274,16	Радикал (3.9)	-2844,74
Радикал (1.5)	-2273,13	Радикал (3.10)	-2835,59
Радикал (1.6)	-2283,70	Радикал (3.11)	-2806,53
Радикал (1.7)	-2283,90	Радикал (3.12)	-2854,32
Радикал (1.8)	-2252,18	Радикал (4.1)	-3708,51
Радикал (1.9)	-2785,28	Радикал (4.2)	-3692,46
Радикал (1.10)	-2765,81	Радикал (4.3)	-3702,12
Радикал (1.11)	-2747,22	Радикал (4.4)	-3714,11
Радикал (1.12)	-2794,77	Радикал (4.5)	-3722,16
Радикал (2.2)	-2150,32	Радикал (5.1)	-4218,98
Радикал (2.3)	-2138,10	Радикал (5.2)	-4184,78
Радикал (2.4)	-2148,72	Радикал (5.3)	-4212,67
Радикал (2.5)	-2152,60	Радикал (5.4)	-4224,79
Радикал (2.6)	-2163,88	Радикал (5.5)	-4231,03
		Радикал (6.1)	-1704,49

Таблиця 2 – Розраховані енергії утворення вільних радикалів із нейтральних молекул

Органічний радикал	Енергія утворення радикала, ккал/м	Органічний Радикал	Енергія утворення радикала, ккал/м
Із піридоксину (1)		Із піридоксаміну (3)	
Радикал (1.2)	94,94	Радикал (3.2)	84,30
Радикал (1.3)	94,89	Радикал (3.3)	95,31
Радикал (1.4)	76,05	Радикал (3.4)	75,68
Радикал (1.5)	77,08	Радикал (3.5)	77,03
Радикал (1.6)	66,51	Радикал (3.6)	65,62
Радикал (1.7)	66,30	Радикал (3.7)	68,86
Радикал (1.8)	98,02	Радикал (3.8)	97,94
Із піридоксинфосфату (1.1)		Із піридоксамінфосфату (3.1)	
Радикал (1.9)	75,32	Радикал (3.9)	75,37
Радикал (1.10)	94,79	Радикал (3.10)	84,53
Радикал (1.11)	113,38	Радикал (3.11)	113,58
Радикал (1.12)	65,82	Радикал (3.12)	65,79
Із піридоксалу (2)		Із гідразону (4)	
Радикал (2.2)	80,07	Радикал (4.1)	78,73
Радикал (2.3)	92,29	Радикал (4.2)	94,78
Радикал (2.4)	81,67	Радикал (4.3)	85,12
Радикал (2.5)	77,79	Радикал (4.4)	73,13
Радикал (2.6)	66,51	Радикал (4.5)	65,08
Радикал (2.7)	94,51	Із гідразону (5)	
Із піридоксальфосфату (2.1)		Радикал (5.1)	78,86
Радикал (2.8)	76,33	Радикал (5.2)	113,06
Радикал (2.9)	74,60	Радикал (5.3)	85,17
Радикал (2.10)	113,79	Радикал (5.4)	73,05
Радикал (2.11)	65,55	Радикал (5.5)	66,81
		Із ізоніазиду (6)	
		Радикал (6.1)	66,81

Рис. 1. Вітаміни групи B_6 та радикали на їх основі.

оксидні властивості зазначеного інтермедіату (4) та його фосфорильованої похідної (5). Як видно з таблиці 2, утворення основи Шифа (4) по-різному впливає на енергію, необхідну для утворення радикала ($E_{\text{утв.}}$). Якщо неспарений електрон має можливість делокалізуватись по піридиновому фрагменту та спряжений з ним аміногрупи (радикали 4.1 та 4.5), то енергія утворення таких радикалів помітно зменшується, порівняно з піридоксалем (2), на 2,94 та 1,43 ккал/моль відповідно. Щодо інших вивчених радикалів (4.2, 4.3 та 4.4), де такої делокалізації немає, рівень $E_{\text{утв.}}$ відчутно зростає на 2,49, 5,05 та 6,32 ккал/моль відповідно. Цікаво відмітити, що ізоніазид (6), який сам легко окиснюється до радикала (6.1), після конденсації з піридоксалем (2) значно втрачає такі

властивості й утворює аналогічний радикал (4.4) значно складніше (на 6,32 ккал/моль). Щодо фосфорильованої основи Шифа (5), то особливості її електронної будови лише збільшують $E_{\text{утв.}}$ усіх вивчених радикалів (5.1, 5.3-5.5), порівняно з піридоксальфосфатом (2.1), на 1,26-10,57 ккал/моль. Таким чином, можна зробити висновок, що взаємодія піридоксалю з ізоніазидом з утворенням основи Шифа призводить до значного перерозподілу електронної щільності в молекулі, що полегшує утворення одних радикалів і заважає утворенню інших. Це може корегувати механізм дії вихідних сполук в організмі.

ВИСНОВОК. 1. Вітаміни групи B_6 та ізоніазид мають спільну фізико-хімічну властивість –

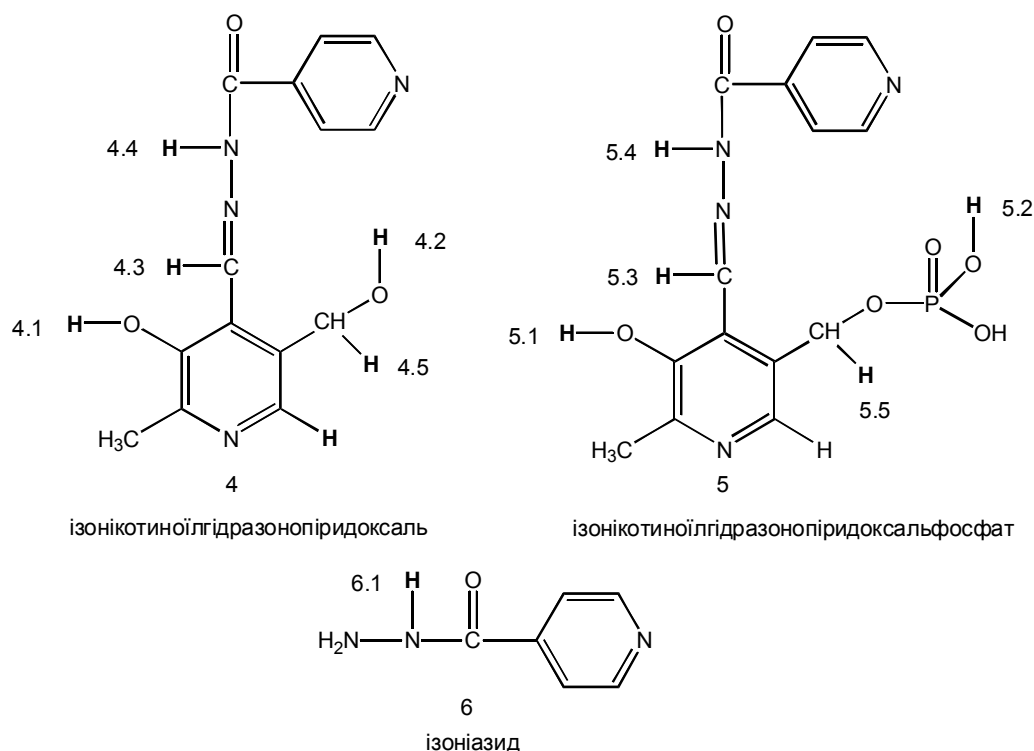


Рис. 2. Продукти конденсації ізоніазиду та піридоксалу і радикали на їх основі.

вони є досить сильними антиоксидантами, ефективність яких майже однакова.

2. Первинним етапом антиоксидної дії вітамінів групи B_6 є легке окиснення атомів водню С-Н-зв'язків гідрокси- та амінометильної груп.

3. Фосфорилування піридоксину, піридоксалу та піридоксаміну в організмі призводить до зростання антиоксидних властивостей цих сполук.

4. Пряма взаємодія між піридоксалем та

ізоніазидом з утворенням основи Шифа полегшує утворення гідроксиметильного радикала на піридоксалевому фрагменті і погіршує утворення амідильного радикала на ізоніазидному фрагменті.

5. Отримані результати дають підставу вважати, що утворення вільних радикалів є високоймовірним етапом молекулярного механізму дії вітамінів групи B_6 та ізоніазиду в організмі.

ЛІТЕРАТУРА

- Беленичев И.Ф., Коваленко С.И., Дунаев В.В. Антиоксиданты: современные представления, перспективы создания // Ліки. – 2002. – № 1-2. – С. 47.
- Вайншток А.Б. Лечение паркинсонизма большими дозами витамина B_6 // Сов. мед. – 1979. – № 7. – С. 14-19.
- Гайова Л.В., Овруцкий О.В. Влияние особенностей структуры пиридоксина, пиридоксала, пиридоксамин на их биологическую активность щодо *Streptococcus faecalis*, *Lactobacillus casei* та росту білих мишей // II Національний з'їзд фармакологів України: тез. доп. – Дніпропетровськ, 2001. – С. 48.
- Гайова Л.В., Овруцкий О.В., Бобкова Л.С. та ін. Особенности строения и реакционная способность пиридоксина, пиридоксала, пиридоксамин та ізоніазиду // Ліки. – 2002. – № 1-2. – С. 94-47.
- Гайова Л.В., Шарикіна Н.І., Бобкова Л.С. та

- ін. Гальмування росту культури мікобактерії туберкульозу ізоніазидом, вітаміном B_6 та піридоксальфосфатом в дослідях *in vitro*. Зв'язок "структура – активність" з використанням квантово-хімічних розрахунків // Укр. пульмонолог. журн. – 2002. – № 2(36). – С. 54 – 57.
- Калинин Ф.Л., Лобов В.П., Жидков В.А. Справочник по биохимии. – К.: Наук думка, 1971. – 1013 с.
- Крюк Т.В., Михальчук В.М., Петренко Л.В. и др. Перспективные ингибиторы окисления полиэтиленгликоля в водных растворах // Хим.-фармац. журн. – 2002. – **36**, № 1. – С. 31-34.
- Машковский М.Д. Лекарственные средства: 2 т. – М.: Медицина, 2000. – Т. 2. – 137 с.
- Рогинский В.А. Фенольные антиоксиданты: реакционная способность и эффективность. – М.: Наука, 1988. – С. 28-53.

10. Фещенко Ю.І., Мельник В.М., Коблянська А.В. Хіміорезистентний туберкульоз.- К.: Здоров'я, 2003. – 136 с.

11. Altamirano M., Marostenmaki J., Wong A. et al. Mutation in the catalase-peroxidase gene from isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates // *J. Infect. Dis.* – 1994. – № 160. – P. 1162-1165.

12. Bionechard J.S. Molecular mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* // *Ann. Rev. Biochem.* – 1996. – **65**. – P. 215.

13. Heut B., Stavropoulos E., Honore N. et al.

Effects of overexpression of the alkyl hydroperoxide reductase AphC on the virulence and isoniazid resistance of *Mycobacterium tuberculosis* // *Infect. Immun.* – 1997. – **65**. – P. 1395-1401.

14. Hyper Chem. Release 7.0 // <http://www.hyper.com>.

15. Rouse D.A., Devito J.A., Li Z. et al. Site-directed mutagenesis of the katG gene of *Mycobacterium tuberculosis*: effects on catalase-peroxidase activities and isoniazid resistant // *Mol. Microbiol.* – 1996. – **30**. – P. 583-592.

ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ОКИСЛЕНИЯ ВИТАМИНОВ ГРУППЫ В₆ КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Ю.И. Губский¹, Л.В. Гаевая, Л.С. Бобкова, О.А. Васильченко
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА, КИЕВ¹
ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ, КИЕВ

Резюме

С помощью квантово-химических расчетов определены энергии окисления витаминов группы В₆ – пиридоксина, пиридоксала, пиридоксамина и их фосфорилированных производных – к свободным радикалам. Проведено количественное сравнение возможности реализации разных направлений этого процесса. Установлено, что легче всего образуются радикалы на атомах углерода гидроксид- и аминометильной групп. Показано также, что витамины группы В₆ и изониазид характеризуются близкими и низкими значениями энергии образования соответствующих радикалов из нейтральных молекул. Их высокая антиоксидантная активность, вероятно, свидетельствует о возможности радикального механизма их действия в организме.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пиридоксин, пиридоксаль, пиридоксамин, изониазид, окисление, радикалы, квантово-химические расчеты.

STUDY OF GROUP В₆ VITAMINS OXIDATION FEATURES BY QUANTUM-CHEMICAL METHODS

Yu.I. Gubsky¹, L.V. Gayeva, L.S. Bobkova, O.A. Vasylchenko
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLETZ, KYIV¹
INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF AMS OF UKRAINE, KYIV

Summary

With the help of quantum-chemical calculations are defined oxidation energies of group В₆ vitamins – pyridoxine, pyridoxal, pyridoxamine and their phosphorylated derivatives – to free radicals. Quantitative comparison of an opportunity of different directions realization of this process is carried out. It is established, that radicals on carbon atoms of hydroxy- and aminomethyl groups are formed most easily. It is also shown, that group В₆ vitamins and isoniazid are characterized by close and low values of formation energy of corresponding radicals from neutral molecules. Their high antioxidant activity can testify to an opportunity of the radical mechanism of their action in an organism.

KEY WORDS: pyridoxine, pyridoxal, pyridoxamine, isoniazid, oxidation, radicals, quantum-chemical calculations.

Отримано 20.04.2004 р.

Адреса для листування: Ю.І. Губський, Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, просп. Перемоги, 34, Київ, 03057, Україна.

ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ $K_{AT\Phi}$ -КАНАЛІВ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН МІТОХОНДРІЙ ПЕЧІНКИ МУРЧАКІВ ЗА АДРЕНАЛІНОВОЇ МІОКАРДІОДИСТРОФІЇ

Г.М. Ткаченко¹, Н.М. Кургалюк¹, О.Є. Кордунська²

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ІВАНА ФРАНКА¹

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО²

Досліджено основні показники функціонального стану мітохондрій печінки мурчаків під впливом активатора АТФ-чутливих калієвих каналів діазоксиду та блокатора 5-гідроксидекааноату при експериментальній адреналіновій міокардіодистрофії. Парентеральне введення діазоксиду має чіткий протекторний ефект на процеси мітохондріального енергозабезпечення печінки за цих умов. Зазначені зміни супроводжуються зростанням ефективності окиснення α -кетоглутарату порівняно з сукцинатом у мітохондріях на тлі зниження інтенсивності процесів ліпопероксидації. Це попереджує негативні наслідки порушень функціонування процесів окиснювального фосфорилування, викликаних значними дозами катехоламінів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: $K_{AT\Phi}$ -канали, адреналінова міокардіодистрофія, мітохондрії, окиснювальне фосфорилування.

ВСТУП. Однією з ланок патогенезу пошкодження серця при введенні великих доз катехоламінів або їх синтетичних аналогів, як і за умов моделювання стресу, є порушення процесів енергозабезпечення клітин. Доведено, що адреналін у великих дозах незворотно роз'єднує процеси окиснення і фосфорилування, знижуючи концентрацію АТФ, креатинфосфату і збільшуючи вміст АМФ, креатиніну і неорганічного фосфату, що супроводжується зростанням величини потенціалу фосфорилування у мітохондріях [1]. Вплив адреналіну пов'язаний із значною напруженістю енергетичних процесів з одночасним зниженням спряженості дихання і фосфорилування. Порушення енергозабезпечення у мітохондріях спричиняє утворення активних форм кисню і пов'язану з цим активацію вільнорадикальних реакцій [10].

З метою зменшення негативних наслідків пошкоджувальної дії великих доз катехоламінів і попередження розвитку оксидативного стресу у клітині запропоновано активатори мітохондріальних АТФ-чутливих калієвих каналів ($K_{AT\Phi}$ -каналів), для яких встановлено потужні кардіо-

протекторні властивості при ішемії-реперфузії, інфаркті міокарда, ішемічній хворобі серця тощо [7]. За нормальних умов $K_{AT\Phi}$ -канали інгібуються внутрішньоклітинною АТФ і відкриваються при енергетичному дефіциті. Вони ідентифіковані у різних типах тканин, проте найважливіша їх роль полягає у підтриманні мембранного потенціалу спокою у β -клітинах підшлункової залози і секреції ними інсуліну [8].

У наших попередніх роботах показано підвищення ефективності функціонування мітохондріальних кисеньзалежних процесів залежно від вихідної фізіологічної реактивності у щурів лінії Вістар при введенні активаторів $K_{AT\Phi}$ -каналів за умов адреналінової міокардіодистрофії [3-5]. Проте у літературі недостатньо даних щодо впливу модуляторів $K_{AT\Phi}$ -каналів за цих умов у тварин, які володіють високою вихідною резистентністю до гіпоксичного впливу та підвищеним холінергічним статусом організму. Тому мета роботи полягала у дослідженні впливу активатора $K_{AT\Phi}$ -каналів діазоксиду, блокатора цих каналів 5-гідроксидекааноату на показники мітохондріального дихання у печінці мурчаків при експериментальній адреналіновій міокардіодистрофії.

© Г.М. Ткаченко, Н.М. Кургалюк – к.біол.н., О.Є. Кордунська, 2004.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на мурчаках масою 0,4-0,45 кг, яких утримували в умовах віварію на стандартному раціоні. Їх поділили на 4 групи (по 6 тварин у кожній). 1-шу групу склали інтактні мурчаки, яким перед дослідом вводили 1 мл фізіологічного розчину. У тварин 2-ї групи моделювали експериментальну адреналінову міокардіодистрофію (АМД) шляхом однократного внутрішньом'язового введення 0,1 % розчину адреналіну гідрохлориду (1,5 мг/кг).

Відомо, що найпомітніші морфологічні і біохімічні зміни настають протягом першої доби після введення великих доз адреналіну, тому з метою виявлення максимальних порушень енергетичного метаболізму ми вивчали процеси АДФ-стимульованого дихання у мітохондріях печінки мурчаків на 24-й годині від початку експерименту [1]. Перед дослідом цій групі тварин також вводили 1 мл фізіологічного розчину. Для дослідження впливу модуляторів $K_{\text{АТФ}}$ -каналів їх вводили дослідним мурчакам (3-тя і 4-та групи) внутрішньоочеревинно за 30 хв до введення адреналіну: активатор $K_{\text{АТФ}}$ -каналів діазоксид (1 мг/кг, "Sigma", США) або їх блокатор 5-гідроксидеканоат (5 мг/кг, "Sigma", США).

Мітохондрії (МХ) печінки виділяли шляхом диференційного центрифугування за умов, в яких зберігалась їхня нативність, як описано нами раніше [3]. Процеси дихання та окиснювального фосфорилування досліджували полярографічним методом [2] з використанням закритого електрода Кларка і полярографічного аналізатора РА-7. Середовище гомогенізації містило (в ммоль/л): KCl – 120, K_2CO_3 – 2, $HEPES$ – 10, $EGTA$ – 1 (pH-7,2). Середовище інкубації для МХ містило (у ммоль/л): KCl – 120, K_2CO_3 – 2, KH_2PO_4 – 2, $HEPES$ – 10 (pH-7,2). Як субстрати окиснення використовували (в ммоль/л): сукцинат – 0,35 і α -кетоглутарат – 1. Також проводили аналіз із застосуванням інгібіторів: мітохондріального ферментного комплексу 1 (10 мкМ ротенону) та сукцинатдегідрогенази (2 мМ малонату). Дихання стимулювали 200 мкМ АДФ. За отриманими результатами полярограми обчислювали параметри дихання мітохондрій: швидкість фосфорилувального (метаболічний стан 3, V_3) та контрольованого (метаболічний стан 4, V_4) дихання, дихальний контроль (V_3/V_4) за Чансом, коефіцієнт ефективності фосфорилування (АДФ/О) та швидкість фосфорилування (V_{ϕ}). Концентрацію білка визначали методом [9]. Інтенсивність процесів ліпопероксидації оцінювали за накопиченням продуктів, які реагують із 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-

активними продуктами) [6]. Результати досліджень обробляли статистично, використовуючи t-критерій Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Проведені дослідження засвідчили значні порушення процесів мітохондріального дихання у печінці мурчаків за умов АМД у разі окиснення субстратів циклу Кребса – сукцинату (СК) і α -кетоглутарату (КГЛ). Так, при окисненні СК вірогідно зростають на 46,29 ($p < 0,01$) й 23,56 % ($p < 0,05$) відповідно швидкість фосфорилувального дихання (V_3) та швидкість фосфорилування (V_{ϕ}). Зазначені зміни, однак, супроводжуються помітним зменшенням на 19,49 % ($p < 0,01$) величини спряженості процесів дихання й окиснювального фосфорилування (дихального контролю за Чансом, V_3/V_4) (табл. 1). Окиснення КГЛ за умов АМД відбувається при зниженні усіх досліджуваних параметрів функціонування МХ печінки. Зокрема, вірогідно зменшуються на 34,38 ($p < 0,01$), 58,99 ($p < 0,001$), 50,69 % ($p < 0,01$) відповідно спряженість, ефективність та швидкість фосфорилування (табл. 2).

Отже, розвиток АМД викликає значне пригнічення окиснення НАД-залежних субстратів дихального ланцюга МХ, що проявляється у зниженні ефективності киснезалежних процесів для КГЛ помітніше, ніж для СК. Різноманітність змін в окисненні НАД- і ФАД-залежних субстратів при розвитку АМД у МХ печінки мурчаків засвідчує зростання ролі сукцинатоксидазного шляху та тлі інгібування НАД-залежного окиснення в органелах.

Відомо, що енергодефіцит міокарда і розвиток його дистрофії супроводжуються не лише його пошкодженням, а й інших функціональних систем організму [1, 4]. При зазначених змінах має місце енергетичний дисбаланс, що виникає не тільки при зниженні окиснення, тобто порушенні роботи дихального ланцюга МХ, але й при нормальному, а деколи навіть і посиленому, окисненні. Походження енергетичного дефіциту зумовлене насамперед надмірною активацією симпатoadреналової системи. Надмірне накопичення катехоламінів поряд з гіперфункцією серця призводить до включення комплексу метаболічних механізмів, що викликають послаблення біологічного окиснення або зниження його ефективності.

Нами показано, що парентеральне введення активатора мітохондріальних $K_{\text{АТФ}}$ -каналів діазоксиду за умов АМД у разі окиснення СК підвищує спряженість енергетичних процесів у МХ на 30,57 % ($p < 0,01$). При цьому ефекти впливу діазоксиду на окиснення КГЛ були

помітнішими: спряженість, ефективність та швидкість фосфорилування зростали на 47,96 ($p < 0,001$), 102,63 ($p < 0,001$) і 99,17 % ($p < 0,01$) відповідно. Отже, підвищення ефективності функціонування НАД-залежних субстратів дихального ланцюга МХ, КГЛ зокрема, може бути основою протекторного ефекту діазоксиду, що повністю нівелюється шляхом введення 5-гідроксидеканоату – блокатора каналів даного типу (табл. 1 і 2).

Для з'ясування внеску НАД- і ФАД-залежних субстратів у загальне окиснення дихального ланцюга МХ нами проведено інгібіторний аналіз з використанням ротенону – інгібітора мітохондріального ферментного комплексу I та сукцинатдегідрогенази – малонату. Так, додавання ротенону разом з СК за умов АМД супроводжується підвищенням швидкості фосфорилувального дихання на тлі зниження його ефективності (рис. 1-3).

Зменшення або попередження ішемічного пошкодження традиційно зосереджувалося на пошуках способів блокади явищ, пов'язаних з незворотним ішемічним ураженням. Відкриття ендogenousного клітинного захисного механізму, відомого як ішемічне прекодиціювання (ІПК), виявило, що активація природних шляхів або білків-мішеней попереджує розвиток у клітинах некротичних або апоптичних змін. ІПК – явище,

пов'язане з протекторною дією коротких періодів ішемії у процесах адаптації міокарда до тривалої ішемії і попередження розвитку інфаркту [7].

У захисних механізмах ІПК беруть участь внутрішньоклітинні сигнальні шляхи, що включають активацію рецепторів, G-білків, фосфоліпази С, тирозинкінази, протейнінази С і утворення активних форм кисню. Тому протекторні ефекти не блокуються на різних етапах через активацію альтернативних шляхів [8, 10]. Незважаючи на значні зусилля дослідників, ідентифікація кінцевого ефектора протекторної дії ІПК залишається до кінця не з'ясованою.

За нормальних умов $K_{ATФ}$ -канали як протекторні медіатори інгібуються внутрішньоклітинною АТФ і відкриваються при енергетичному дефіциті. Вони ідентифіковані у різних типах тканин, проте значну їх роль показано у підтриманні мембранного потенціалу спокою (МПС) β -клітин підшлункової залози й у секреції інсуліну. Функціонування $K_{ATФ}$ -каналів лежить в основі підтримання МПС у гладеньком'язових клітинах судин. У міокарді ідентифіковані сарколемальні $K_{ATФ}$ -канали. Їх активація у кардіоміоцитах не впливає значним чином на МПС. Дослідженнями останніх років показано значну кардіопротекторну роль іншої ізоформи $K_{ATФ}$ -каналів, що зосереджені у внутрішній

Таблиця 1 – **Зміни показників АДФ-стимульованого дихання мітохондрій печінки мурчаків під впливом пінацидилу і глібенкламіду за умов адреналінової міокардіодистрофії. Субстрат окиснення – 0,35 мМ сукцинат**

Умови дослідження	V_3 , нг ат О/хв/мг білка	Дихальний контроль, V_3/V_4	АДФ/О, мкМ АДФ/нг ат О	$V_{Ф^*}$ мкМ АДФ/хв/мг білка
Контроль	47,50±3,13	3,90±0,14	1,87±0,16	88,29±6,54
Адреналінова міокардіодистрофія	69,49±5,18*	3,14±0,18*	1,57±0,13	109,09±4,14*
Діазоксид і адреналінова міокардіодистрофія	71,79±6,37	4,10±0,22**	1,43±0,09	102,53±6,29
5-Гідроксидеканоат і адрена- лінова міокардіодистрофія	54,95±4,70**	2,31±0,16**	1,00±0,07**	55,14±4,31**

Примітка. Тут і далі * – вірогідні зміни ($p < 0,05$) щодо контролю та адреналінової міокардіодистрофії;

** – те ж стосовно введення препаратів і адреналінової міокардіодистрофії.

Таблиця 2 – **Зміни показників АДФ-стимульованого дихання мітохондрій печінки мурчаків під впливом пінацидилу і глібенкламіду за умов адреналінової міокардіодистрофії. Субстрат окиснення – 1 мМ α -кетоглутарат**

Умови дослідження	V_3 , нг ат О/хв/мг білка	Дихальний контроль, V_3/V_4	АДФ/О, мкМ АДФ/нг ат О	$V_{Ф^*}$ мкМ АДФ/хв/мг білка
Контроль	54,79±4,54	4,48±0,29	2,78±0,15	152,33±10,22
Адреналінова міокардіодистрофія	64,84±5,25	2,94±0,23*	1,14±0,07*	75,11±6,08*
Діазоксид і адреналінова міокардіодистрофія	64,79±4,29	4,35±0,23**	2,31±0,11**	149,60±9,31**
5-Гідроксидеканоат і адрена- лінова міокардіодистрофія	43,81±3,78**	1,97±0,08**	0,94±0,05**	41,31±3,79**

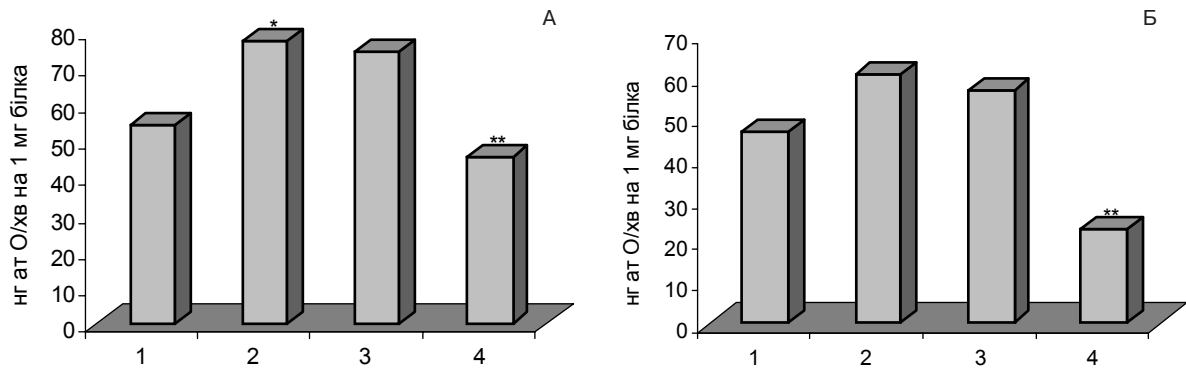


Рис. 1. Ротенончутлива компонента окиснення сукцинату (А) та малонатчутлива компонента окиснення α -кетоглутарату (Б) швидкості АДФ-стимульованого дихання мітохондрій печінки мурчаків за умов адреналінової міокардіодистрофії і введення модуляторів K_{ATP} -каналів.

Тут і далі: 1 – контроль, 2 – адреналінова міокардіодистрофія, 3 – вплив діазоксиду за адреналінової міокардіодистрофії, 4 – вплив 5-гідроксидеаноату за адреналінової міокардіодистрофії.

Примітка. * – зміни достовірні ($p < 0,05$) щодо показників контролю; ** – зміни достовірні ($p < 0,05$) стосовно введення препаратів і адреналінової міокардіодистрофії.

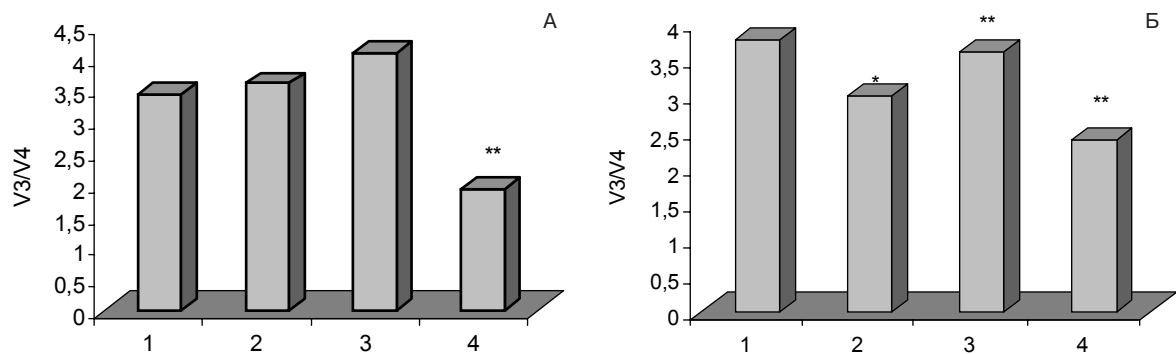


Рис. 2. Ротенончутлива компонента окиснення сукцинату (А) та малонатчутлива компонента окиснення α -кетоглутарату (Б) спряженості процесів дихання і фосфорилювання мітохондрій печінки мурчаків за умов адреналінової міокардіодистрофії і введення модуляторів K_{ATP} -каналів.

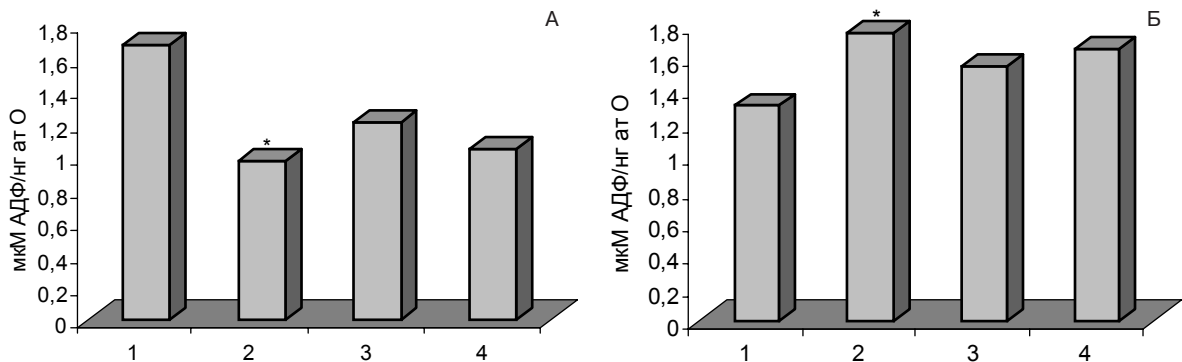


Рис. 3. Ротенончутлива компонента окиснення сукцинату (А) та малонатчутлива компонента окиснення α -кетоглутарату (Б) ефективності окиснювального фосфорилювання мітохондрій печінки мурчаків за умов адреналінової міокардіодистрофії і введення модуляторів K_{ATP} -каналів.

мембрані МХ, і, можливо, можуть бути як тригерами, так і ефекторами процесу ІПК. Відсутність протекторних ефектів ІПК у мурчаків, генноінженерним шляхом позбавлених субодиниць цього типу каналів, переконує у тому, що K_{ATP} -канали відіграють центральну роль у процесі ІПК [7, 8, 10].

Малонатчутлива компонента окиснення КГЛ виокремлює внесок в окиснення ендогенного СК, пов'язаного з модифікацією показ-

ників дихання МХ. Дійсно, інгібіторний аналіз засвідчив, що ендогенний СК не знижує окиснення НАД-залежних субстратів при АМД, тому, ймовірно, нами не отримано вірогідного зменшення показника V_3 за умов окиснення КГЛ. При використанні малонату було виявлено достовірне зниження дихального коефіцієнта за Чансом (на 20,9 %, $p < 0,05$) на тлі підвищення значення АДФ/О (на 34,35 %, $p < 0,01$). Ефекти діазоксиду посилюють окиснення КГЛ, що су-

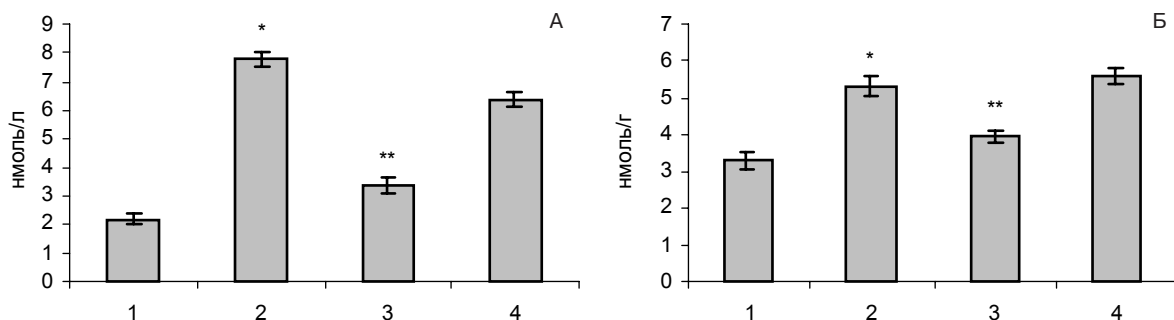


Рис. 4. Вміст ТБК-активних продуктів у крові (А) та печінці (Б) мурчаків за умов адреналінової міокардіодистрофії і введення модуляторів K_{ATP} -каналів.

проводжується зростанням спряженості процесів дихання і фосфорилування на 20,74 % ($p < 0,05$) при відсутності вірогідних змін у роте-нончутливій компоненті окиснення СК. Значну залежність розвитку АМД від функціонування каналів даного типу засвідчує посилення інгібіторного ефекту 5-гідроксидеканоату (рис. 1-3).

Активация каналів даного типу супроводжується інтенсифікацією процесів дихання та окиснювального фосфорилування у дихальному ланцюзі МХ, збереженням АТФ та зменшенням кальцієвого перевантаження цих органел. Тому, можливо, з активаторами цього типу каналів пов'язують значні протекторні ефекти не тільки для серцево-судинної системи, а й для інших важливих функціональних систем організму (мозок, печінка, нирки), де були ідентифіковані дані канали [10].

Розвиток АМД у наших дослідженнях супроводжується значною активацією вільнорадикальних реакцій, оцінюваних за вмістом ТБК-реактивних продуктів у крові та тканині печінки (рис. 4). Парентеральне введення діазоксиду за умов АМД вірогідно знижує інтенсивність

процесів перекисного окиснення ліпідів, що нівелюються інгібітором каналів даного типу 5-гідроксидеканоатом. Отже, активація процесів ліпопероксидації з одночасною активацією системи окиснення СК супроводжується генерацією АФК і є одним з чинників, що визначають кардіотоксичність адреналіну у мурчаків.

ВИСНОВКИ. 1. Адреналінова міокардіодистрофія супроводжується значною активацією окиснення сукцинату, зниженням ефективності і спряженості процесів окиснювального фосфорилування у разі окиснення α -кетоглутарату на тлі вірогідної активації вільнорадикальних реакцій.

2. Парентеральне введення активатора мітохондріальних K_{ATP} -каналів діазоксиду за умов адреналінової міокардіодистрофії сприяє підвищенню ефективності функціонування окиснювальних процесів з одночасним зниженням інтенсивності процесів ліпопероксидації у печінці й крові мурчаків. Ці ефекти нівелюються шляхом введення за цих умов блокатора K_{ATP} -каналів 5-гідроксидеканоату.

ЛІТЕРАТУРА

1. Маркова О.О. Адреналінова міокардіодистрофія і реактивність організму. – Тернопіль, 1998. – 150 с.
2. Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом. – М.: Наука, 1973. – 221 с.
3. Ткаченко Г.М., Кургалюк Н.М., Вовканич А.С. Роль активаторів АТФ-чутливих калієвих каналів у функціонуванні мітохондрій печінки щурів із різною резистентністю до гіпоксії // Укр. біохім. журн. – 2003. – **75**, № 5. – С. 69-76.
4. Ткаченко Г.М., Кургалюк Н.М., Гордій С.К., Рибальченко В.К. АТФ-чутливі калієві канали у регуляції функціонування мітохондрій серця щурів при

адреналіновій міокардіодистрофії // Пробл. екол. та мед. ген. і клін. імунол. – Київ-Луганськ-Харків, 2003. – Вип. 1 (47). – С. 51-57.

5. Ткаченко Г.М., Мойбенко О.О., Кургалюк Н.М. Вплив модуляторів АТФ-чутливих калієвих каналів та інтервального гіпоксичного тренування на мітохондріальне дихання за стресу // Укр. біохім. журн. – 2003. – **75**, № 6. – С. 87-94.

6. Тимирбулатов Р.А., Селезнев Е.И. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лаб. дело. – 1981. – № 4. – С. 209-211.

7. Garlid K.D. Opening mitochondrial KATP in heart

what happens, and what does not happen // Basic Res. Cardiol. – 2000. – **95**. – P. 275-279.

8. Grover G.J., Garlid K.D. ATP-sensitive potassium channels: a review of their cardioprotective pharmacology // J. Mol. Cell Cardiol. – 2001. – **32**. – P. 677-695.

9. Lowry O.H., Rosenbrough N.H., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with Folin protein reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – **193**. – P. 265-275.

10. Szewczyk A., Wojtczak L. Mitochondria as a pharmacological target // Pharmacol. Rev. – 2002. – **54**. – P. 101-127.

ВЛИЯНИЕ МОДУЛЯТОРОВ K_{ATP} -КАНАЛОВ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ МОРСКИХ СВИНОК ПРИ АДРЕНАЛИНОВОЙ МИОКАРДИОДИСТРОФИИ

Г.М. Ткаченко¹, Н.Н. Кургалюк¹, О.Е. Кордунская²

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ИВАНА ФРАНКО¹

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО²

Резюме

Исследовано основные показатели функционального состояния митохондрий печени морских свинок под влиянием активатора АТФ-чувствительных калиевых каналов диазоксидом и блокатора 5-гидроксидеканоата при экспериментальной адреналиновой миокардиодистрофии. Парентеральное введение диазоксидом имеет четкий протекторный эффект на процессы митохондриального энергообеспечения печени в этих условиях. Указанные изменения сопровождаются возрастанием эффективности окисления α -кетоглутарата по сравнению с сукцинатом на фоне снижения интенсивности процессов липопероксидации. Это предупреждает негативные последствия нарушений функционирования процессов окислительного фосфорилирования, вызванных значительными дозами катехоламинов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: K_{ATP} -каналы, адреналиновая миокардиодистрофия, митохондрии, окислительное фосфорилирование.

INFLUENCE OF K_{ATP} -CHANNEL MODULATORS ON FUNCTIONAL STATE OF GUINEA PIG LIVER MITOCHONDRIA UNDER ADRENALINE MIOCARDIODYSTROPHY

G.M. Tkachenko¹, N.M. Kurhalyuk¹, O.Ye. Kordunska²

LVIV NATIONAL UNIVERSITY BY IVAN FRANKO¹

LVIV STATE MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY²

Summary

The main parameters of functional state of guinea pig liver mitochondria under the influence of K_{ATP} -channel opener diazoxide and blocker 5-hydroxydecanoate at adrenaline myocardiodystrophy were investigated. Parenteral injection of diazoxide has a clear protective effect on mitochondrial energy support in liver under adrenaline myocardiodystrophy. These changes are accompanied by increasing of α -ketoglutarate oxidation efficiency comparing with succinate against a background of decreasing of intensity of lipid peroxidation processes. This prevents the negative effect of mitochondrial dysfunction by catecholamines.

KEY WORDS: K_{ATP} -channels, adrenaline miocardiodystrophy, mitochondria, oxidative phosphorylation.

Отримано 14.01.2004 р.

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

ДОСЛІДЖЕННЯ ЦИТОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ ВІНПОЦЕТИНУ НА МОДЕЛІ ТОТАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ МОЗКУ ЩУРІВ *IN VITRO*

Л.І. Білостоцька¹, О.М. Гомон¹, Л.О. Чайка¹, Ю.В. Нікітченко, В.В. Бондар

ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО "ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР
ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ", ХАРКІВ¹

НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ
ХАРКІВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМ. В.Н. КАРАЗІНА

Проведено дослідження цитопротекторного впливу вінпоцетину *in vitro* на мозок в умовах його тотальної ішемії (15 хв, 37 °С). Встановлено, що ішемія призводить до виходу лактатдегідрогенази у середовище ішемізації, різкого порушення функціонального стану мітохондрій (зменшення швидкості поглинання кисню при синтезі АТФ та підвищення інтенсивності аскорбат-Fe²⁺-індукованого перекисного окиснення ліпідів). Внесення вінпоцетину в середовище ішемізації (37,5 або 100 мкг/мл) суттєво послаблює ушкоджувальну дію ішемії: зменшує вихід лактатдегідрогенази, збільшує швидкість поглинання кисню при спряженому із синтезом АТФ окиснюванні субстратів та знижує інтенсивність перекисного окиснення ліпідів. Цитопротекторний ефект препарату зростає при підвищенні його концентрації у середовищі ішемізації.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: вінпоцетин, мозок, ішемія, окиснювальне фосфорилування, перекисне окиснення ліпідів.

ВСТУП. У фармакотерапії цереброваскулярних захворювань широко застосовують препарат "Кавінтон" ("Гедеон Ріхтер", Угорщина), діючою речовиною якого є вінпоцетин – синтетичне похідне вінкаміну, природного алкалоїду барвінку малого. При експериментально-клінічному дослідженні препарату встановлено, що вінпоцетин вибірково впливає на кровообіг і метаболізм головного мозку [2, 3]. Вважають, що лікувальний ефект вінпоцетину опосередковується саме через поліпшення кровопостачання ішемізованих ділянок мозку [2, 3]. Проте ряд дослідників не виявив змін мозкового кровотоку при введенні тваринам вінпоцетину. Так, показано відсутність змін церебрального кровотоку при введенні вінпоцетину в анестезованих собак без ішемії [18] і локального церебрального кровотоку в щурів з ішемією переднього мозку [16], на підставі чого припускають, що церебропротекторна дія вінпоцетину може бути обумовлена прямим цитопротекторним впливом на клітини мозку [16-18].

© Л.І. Білостоцька – к.біол.н., О.М. Гомон – к.біол.н., Л.О. Чайка – к.біол.н., Ю.В. Нікітченко – к.біол.н., В.В. Бондар, 2004.

Метою даної роботи було дослідження можливості цитопротекторної дії вінпоцетину при тотальній ішемії мозку *in vitro*.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на нелінійних щурах-самцях масою 350-430 г, яких утримували у стандартних умовах віварію відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей (Страсбург, 1986).

Щурів декапітували, ізолювали головний мозок (крім заднього і довгастого), розрізали великий мозок по поздовжній щілині на 2 половини і переносили на здрібнений сахарозний лід (0,25 М сахароза) на 3 хв. Тотальну ішемію викликали, поміщаючи зразки мозку на 15 хв у герметичний бюкс з 1 мл середовища ішемізації (СІ; фізіологічний розчин), що знаходився на водяній бані при температурі 37 °С [5]. При дослідженні впливу вінпоцетину його вносили в СІ у кінцевій концентрації 37,5 або 100 мкг/мл (107 і 285 нмоль/мл відповідно). Контрольні зразки мозку поміщали в СІ на 1 с. Вийнявши мозок із СІ, переносили його на сахарозний лід на 3 хв. У кожному варіанті

експериментів використано ліві й праві півкулі мозку.

Як джерело вінпоцетину застосовували препарат "Кавінтон" (розчин для ін'єкцій, "Гедеон Ріхтер", Угорщина), що містить 5 мг вінпоцетину/мл. Обрані концентрації вінпоцетину відповідають його ефективним концентраціям в експериментах *in vitro* [6, 13, 17].

Після повторного охолодження мозку готували його гомогенат і оцінювали стан мітохондріальної системи окиснювання, як описано [1], у реакційному середовищі, що містить 150 мМ сахарози, 75 мМ KCl, 10 мМ KH_2PO_4 , 2 мМ MgCl_2 , 1,5 мМ EGTA, 1 мг знежиреного бичачого сироваткового альбуміну (5-а фракція, "Serva"), 10 мМ трис-HCl, pH=7,4. Реєстрували швидкість поглинання кисню при окислюванні ендо- й екзогенних субстратів. Як екзогенні субстрати використовували NAD^+ -залежні α -кетоглутарат (5 мМ) і глутамат+малат (по 5 мМ), FAD^+ -залежний сукцинат (5 мМ); ADP додавали у концентрації 100 мкМ. При застосуванні сукцинату в реакційне середовище додавали також інгібітор окиснювання NAD^+ -залежних субстратів ротенон у концентрації 1 мкМ. Розраховували швидкість поглинання кисню при окислюванні субстратів у метаболічних станах 3 і 4 за Чансом (відповідно, фосфорилювальне – V_3 і нефосфорилювальне – V_4), а також дихальний контроль (ДК; V_3/V_4).

Інтенсивність аскорбат- Fe^{2+} -індукованого ПОЛ у гомогенаті мозку визначали за швидкістю накопичення малонового діальдегіду (МДА) [4]. Вміст білка в гомогенаті мозку – визначали за методом Лоурі та співавт. у модифікації Міллера [12]. Активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) у середовищі ішемізації (\pm вінпоцетин) – за відновленням NAD^+ . Статистичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Стьюдента (t).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як видно з представлених у таблиці 1 даних, у контрольному варіанті експериментів при короткочасному (на 1 с) внесенні мозку в СІ активність ЛДГ у ньому не визначається, що свідчить про відсутність виходу ферменту. Разом із тим, тотальна 15-хвилинна ішемія призводить до появи активності ферменту в СІ (табл. 1), що, очевидно, зумовлено руйнуванням клітинних мембран мозку.

При вивченні впливу тотальної ішемії на інтенсивність аскорбат- Fe^{2+} -індукованого ПОЛ у гомогенаті мозку щурів встановлено помірне, але достовірне зростання на 19 % рівня накопичення МДА (табл. 1), що свідчить про підвищений ступінь окиснювання ліпідів.

Тотальна ішемія мозку призводить до збільшення швидкості нефосфорилювального окиснювання (на 15-26 %) і зменшення швидкості фосфорилювального окиснювання (на 21-32 %) усіх досліджуваних субстратів (табл. 2). Відповідно, ДК знижується на 29-44 % (табл. 2). Отримані дані свідчать про порушення протонної проникності внутрішньої мембрани мітохондрій, роз'єднання процесів дихання та окиснювального фосфорилювання, зменшення синтезу АТФ.

Таким чином, тотальна 15-хвилинна ішемія мозку викликає різке порушення структурно-функціонального стану мітохондрій мозку, інтенсифікацію ПОЛ, пошкодження клітинних мембран.

На відміну від ішемії без препарату, внесення вінпоцетину в концентрації 37,5 мкг/мл призводить до зменшення на 33 % виходу ЛДГ з мозку в СІ та нормалізації інтенсивності аскорбат- Fe^{2+} -індукованого ПОЛ (табл. 1). Вінпоцетин у цій концентрації, не відновлюючи порушені тотальною ішемією параметри мітохондріального окиснювання ендо- й екзогенних NAD^+ -залежних субстратів, помітно послаблює прояви ішемії при окислюванні FAD^+ -залежного субстрату сукцинату (табл. 2).

Вінпоцетин у концентрації 100 мкг/мл виразно знижує вихід ЛДГ на 82 % порівняно з тотальною ішемією без препарату (табл. 1). При цьому активність аскорбат- Fe^{2+} -індукованого ПОЛ не має статистично достовірних відмінностей від показників груп "контроль" та "ішемія". Зазначена концентрація вінпоцетину запобігає зниженню V_3 при окислюванні ендо- й екзогенних субстратів, яке спостерігалось при тотальній ішемії, практично не виявляючи впливу на V_4 (табл. 2). Показник ДК, що відображає ступінь спряженості дихання та окиснювального фосфорилювання, частково відновлюється ($p < 0.05$) при окислюванні ендо- й екзогенних субстратів, за винятком глутамату+малат (табл. 2).

При порівнюванні ефектів вінпоцетину в концентраціях 37,5 та 100 мкг/мл встановлено, що з підвищенням вмісту препарату в СІ статистично достовірно зменшується вихід ЛДГ із мозку (табл. 1) та відновлюються V_3 і ДК при окислюванні ендогенних субстратів та α -кетоглутарату (табл. 2).

З даних літератури відомо, що в умовах *in vitro* вінпоцетин виявляє виражені антиоксидну та антирадикальну дії [7, 10, 11], у тому числі й при аскорбат- Fe^{2+} -індукованому ПОЛ в ізольованих синаптосомах щурів [17]. Крім цього, встановлено, що внесення вінпоцетину в культуру клітин мозку запобігає N-метил-D-ас-

Таблиця 1 – Вплив вінпоцетину на вихід лактатдегідрогенази (ЛДГ) в середовище ішемізації (CI) та інтенсивність аскорбат-Fe²⁺-індукованого ПОЛ у гомогенатах мозку щурів в умовах тотальної ішемії мозку *in vitro*

Група	[C _{вінп.}], мкг/мл	ЛДГ у CI, ммоль NADH/г тканини	Аскорбат-Fe ²⁺ -індуковане ПОЛ, нмоль МДА/мг білка за 20 хв
Контроль	–	0	16,640±0,865
Ішемія	–	4,195±0,777	19,860±0,649 *
Ішемія+вінпоцетин	37,5	2,796±0,815	16,620±1,218
	100	0,752±0,302 **	18,110±0,526

Примітка. * – p<0,05 порівняно з групою "контроль"; ** – p<0,05 порівняно з групою "ішемія"; [C_{вінп.}] – вміст вінпоцетину в середовищі ішемізації; n=4-6.

Таблиця 2 – Вплив вінпоцетину на швидкість поглинання кисню та дихальний контроль при окиснюванні ендо- та екзогенних субстратів гомогенатами мозку щурів в умовах тотальної ішемії мозку *in vitro*

Група	[C _{вінп.}], мкг/мл	V ₄	V ₃	ДК
		натом O/мг білка*хв		
<i>Ендогенні субстрати окиснювання</i>				
Контроль	–	4,82±0,39	9,41±0,44	1,998±0,167
Ішемія	–	5,71±0,14*	6,41±0,24*	1,123±0,034*
Ішемія+вінпоцетин	37,5	5,85±0,15*	6,65±0,27*	1,157±0,036*
	100	6,04±0,28*	8,42±0,32***	1,402±0,071***
<i>Субстрат окиснювання – ~-кетоглутарат</i>				
Контроль	–	10,02±0,62	21,57±1,37	1,925±0,132
Ішемія	–	12,58±0,26*	16,71±0,45*	1,326±0,046*
Ішемія+вінпоцетин	37,5	10,66±0,45**	14,43±0,61***	1,355±0,028*
	100	12,14±0,68	18,36±0,84***	1,500±0,039***
<i>Субстрат окиснювання – глутамат+малат</i>				
Контроль	–	8,19±0,48	21,10±1,53	2,580±0,138
Ішемія	–	9,41±0,45 ^Δ	14,75±1,06*	1,575±0,097*
Ішемія+вінпоцетин	37,5	9,27±0,37	14,60±1,24*	1,571±0,106*
	100	10,11±0,48*	17,59±0,16	1,750±0,070*
<i>Субстрат окиснювання – сукцинат</i>				
Контроль	–	12,33±0,77	27,31±1,936	2,215±0,057
Ішемія	–	14,12±0,25*	21,61±1,19*	1,582±0,077*
Ішемія+вінпоцетин	37,5	13,87±0,29	23,34±1,22	1,674±0,053*
	100	13,44±0,63	24,78±0,90	1,861±0,085**

Примітка. * – p<0,05 порівняно з групою "контроль"; ** – p<0,05 порівняно з групою "ішемія"; *** – p<0,05 порівняно з групою "ішемія+37,5 мкг/мл вінпоцетину"; Δ – 0,1<p<0,05 порівняно з групою "контроль"; [C_{вінп.}] – вміст вінпоцетину в середовищі ішемізації; n=4-6.

партат-, кайнат- [7] і вератридиніндукованій [11] загибелі клітин та підвищує їх виживання при дії ціаніду [10]. Додавання вінпоцетину в клітинну культуру астроцитів знижує кількість мертвих і апоптичних клітин, стимулює функціонування мітохондрій, збільшує внутрішньоклітинний вміст АТР, пригнічує активність каспази-3 [8]. Таким чином, на культури клітин та ізольовані клітини мозку вінпоцетин виявляє виражену цитопротекторну дію.

Отримані нами результати свідчать про те, що вінпоцетин у дослідках на ізольованому мозку в умовах його тотальної ішемії виявляє прямий цитопротекторний вплив, зумовлений мембранопротекторною дією. Ці властивості він-

поцетину можуть бути основою його фармакологічного церебропротекторного ефекту.

ВИСНОВКИ. 1. Вінпоцетин при тотальній ішемії мозку виявляє концентраційнозалежну цитопротекторну дію, яка проявляється у збільшенні швидкості спряженого із синтезом АТР окиснювання субстратів, поліпшенні ступеня спряженості дихання та окиснювального фосфорилування, зниженні інтенсивності ПОЛ та мембраностабілізуючому ефекті.

2. Прямий цитопротекторний вплив вінпоцетину на клітини мозку може бути в основі його первинної фармакологічної реакції як церебропротекторного засобу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Белостоцкая Л.И., Чайка Л.А., Гомон О.Н. Влияние циннаризина на митохондриальную систему окисления мозга, антиокислительную активность крови и поведенческую реактивность крыс при гипоксии // Эксперим. клинич. фармакол. – 2003. – **66**, № 6. – С. 16-19.
2. Кавинтон в эксперименте и клинической практике: Методические рекомендации / Под ред. Е.И. Гусева. – М., 1998. – 54 с.
3. Ковач Л. Обобщение и оценка клинических исследований Кавинтона (TCV-3B), проведенных японскими авторами // Венг. фармакогер. – 1992. – **40**, № 1. – С. 3-12.
4. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового ди-альдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.
5. Стреляный С.М. Влияние ишемии мозга крыс разного возраста на дыхание и окислительное фосфорилирование в гомогенатах // В сб.: Биохимия и физиология возрастного развития организма. – К.: Наук. думка, 1992. – С. 311-318.
6. Erdo S.A., Molnar P., Lakics V. et al. Vincamine and vincanol are potent blockers of voltage-gated Na⁺ channels // Eur. J. Pharmacol. – 1996. – **314**, № 1-2. – P. 69-73.
7. Ergo S.L., Cai N.S., Wolff J.R., Kiss B. Vinpicetin protects against excitotoxic cell death in primary cultures of rat cerebral cortex // Eur. J. Pharmacol. – 1990. – **187**, № 3. – P. 551-553.
8. Gabryel B., Adamek M., Pudelko A. et al. Piracetam and vinpocetine exert cytoprotective activity and prevent apoptosis of astrocytes in vitro in hypoxia and reoxygenation // Neurotoxicology. – 2002. – **23**, № 1. – P. 19-31.
9. Karmazsin L., Olah V.A., Balla G., Makay A. Serum antioxidant activity in premature babies // Acta Paediatr. Hung. – 1990. – **30**, № 2. – P. 217-224.
10. Krieglstein J., Rischke R. Vinpocetine increases the neuroprotective effect of adenosine in vitro // Eur. J. Pharmacol. – 1991. – **205**, № 1. – P. 7-10.
11. Lakics V., Sebestyen M.G., Erdo S.L. Vinpocetine is a highly potent neuroprotectant against veratridine-induced cell death in primary cultures of rat cerebral cortex // Neurosci. Lett. – 1995. – **185**, № 2. – P. 127-130.
12. Miller G.I. Protein determination for large numbers of samples // Anal. Chem. – 1959. – **91**, № 5. – P. 964-966.
13. Molnar P., Erdo S.L. Vinpocetine is as potent as phenytoin to block voltage-gated Na⁺ channels in rat cortical neurons // Eur. J. Pharmacol. – 1995. – **273**, № 3. – P. 303-306.
14. Olah V.A., Balla G., Balla J. et al. An in vitro study of the hydroxyl scavenger effect of Cavinton // Acta Paediatr. Hung. – 1990. – **30**, № 2. – P. 309-316.
15. Orvisky E., Soltes L., Stancikova M. High-molecular-weight hyaluronan – a valuable tool in testing the antioxidative activity of amphiphilic drugs stobadine and vinpocetine // J. Pharm. Biomed. Anal. – 1997. – **16**, № 3. – P. 419-424.
16. Rischke R., Krieglstein J. Protective effect of vinpocetine against brain damage caused by ischemia // Jpn. J. Pharmacol. – 1991. – **56**, № 3. – P. 349-356.
17. Santos M.S., Duarte A.I., Moreira P.I., Oliveira C.R. Synaptosomal response to oxidative stress: effect of vinpocetine // Free Radic. Res. – 2000. – **32**, № 1. – P. 57-66.
18. Yamada S., Yamaguchi K., Okuyama S. Effects of VA-045 on peripheral and central circulation in anesthetized dogs // Gen. Pharmacol. – 1995. – **26**, № 6. – P. 1419-1424.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ВИНПОЦЕТИНА НА МОДЕЛИ ТОТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ МОЗГА КРЫС IN VITRO

Л.И. Белостоцкая¹, О.Н. Гомон¹, Л.А. Чайка¹, Ю.В. Никитченко, В.В. Бондарь
ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ "ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ", ХАРЬКОВ¹
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ХАРЬКОВСКОГО НАЦИОНАЛЬНОГО
УНИВЕРСИТЕТА ИМ. В.Н. КАРАЗИНА

Резюме

Проведено исследование цитопротекторного влияния винпоцетина *in vitro* на мозг в условиях его тотальной ишемии (15 мин, 37 °С). Установлено, что ишемия приводит к выходу лактатдегидрогеназы в среду ишемизации, резкому нарушению функционального состояния митохондрий (уменьшению скорости поглощения кислорода при синтезе АТФ и повышению интенсивности аскорбат-Fe²⁺-индуцированного перекисного окисления липидов). Внесение винпоцетина в среду ишемизации (37,5 или 100 мкг/мл) существенно ослабляет повреждающее действие ишемии: уменьшает выход лактатдегидрогеназы,

увеличивает скорость поглощения кислорода при сопряженном с синтезом АТФ окислении субстратов и снижает интенсивность перекисного окисления липидов. Цитопротекторный эффект препарата возрастает при повышении его концентрации в среде ишемизации.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: винпоцетин, мозг, ишемия, окислительное фосфорилирование, перекисное окисление липидов.

THE RESEARCH OF VINPOCETINE CYTOPROTECTIVE EFFECT UNDER THE RAT BRAIN TOTAL ISCHEMIA MODEL IN VITRO

L.I. Bilostotska¹, O.M. Gomon¹, L.O. Chaika¹, Yu.V. Nikitchenko, V.V. Bondar
STATE ENTERPRISE "STATE SCIENTIFIC CENTER OF DRUGS", KHARKIV'
BIOLOGY RESEARCH INSTITUTE OF KHARKIV NATIONAL UNIVERSITY BY V.N. KARAZIN

Summary

The research of vinpocetine cytoprotective influence in vitro on the brain total ischemia (15 min, 37 °C) was conducted. It was established that ischemia results in lactate dehydrogenase release into ishemisation medium, sharp disturbance of mitochondrial functional state, decrease of oxygen intake rate at ATP synthesis and increase of ascorbate-Fe²⁺-induced lipid peroxidation intensity. Vinpocetine addition to ischemisation medium (37,5 or 100 mkg/ml) significantly reduces the damaging effect of ischemia: lactate dehydrogenase release is lowered, oxygen intake coupled with ATP synthesis under substrate oxidation is raised and lipid peroxidation intensity is diminished. Cytoprotective effect of vinpocetine increases if its concentration in ishemisation medium is raised.

KEY WORDS: vinpocetine, brain, ischemia, oxidative phosphorylation, lipid peroxidation.

Отримано 10.04.2004 р.

Адреса для листування: Л.І. Білостоцька, Державний науковий центр лікарських засобів, вул. Астрономічна, 33, Харків, 61085, Україна.

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



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

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

Медична хімія — т. 6, № 2, 2004

АНТИБАКТЕРІАЛЬНА АКТИВНІСТЬ 4-(АДАМАНТИЛ-1)-1-(1-АМІНОБУТИЛ)БЕНЗОЛУ ВІДНОСНО ПРЕДСТАВНИКІВ РОДИНИ ENTEROBACTERIACEAE

Н.О. Вринчану

ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, КИЇВ

В умовах *in vitro* проведено дослідження антибактеріальної активності нового похідного адамантану відносно представників родини *Enterobacteriaceae*. Встановлено, що найбільшу чутливість до дії сполуки виявили *Enterobacter aerogenes* та *E.coli*. Мінімальна пригнічувальна та бактерицидна концентрації збігаються і складають від 2,5 до 40 мкг/мл залежно від виду мікроорганізму.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: антибактеріальна дія, *Enterobacteriaceae*, похідне адамантану.

ВСТУП. На сьогодні захворювання, спричинені представниками родини *Enterobacteriaceae*, займають одне з провідних місць у структурі інфекційних захворювань. З 30 родів родини *Enterobacteriaceae* близько 13 можуть зумовити різноманітні хвороби як кишкової, так і некишкової локалізації. Серед них – *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia* [14].

Зараз в Україні кишкові хвороби займають 2 місце в загальній структурі інфекційної патології, поступаючись лише гострим респіраторним інфекціям [11].

Захворювання кишкової локалізації спричиняють шигели, сальмонели, кишкова паличка філогенетичних груп А, В, D та інші мікроорганізми. Так, кишкова паличка сероварів 025, 0124, 01244 викликає холероподібні захворювання, а серовари 026:В6, 055:В5 та 0111:В4 – колієнтерити [14]. Частка шигел у структурі гострих кишкових інфекцій складає близько 30,8 %, сальмонел – 27,9 % [1, 2]. Кількість кишкових захворювань на сучасному етапі має тенденцію до зростання. Так, за даними Держкомстату України [3], кількість цих захворювань у 1997 р. становила 21,4 на 100 тис. населення, у 2000 р. – 110,7.

В останні роки в клініці нагальною проблемою стали нозокоміальні інфекції. За даними

ВООЗ [3, 18], у 5-7 % хворих, госпіталізованих у лікувальні заклади, мають місце ускладнення, зумовлені внутрішньолікарняною інфекцією (ВЛІ). У стаціонарах США щорічно реєструється близько 2 млн таких захворювань, у Німеччині – 500-700 тис. [3]. У Росії в 1997 р. було зареєстровано 56 тис. випадків нозокоміальних інфекцій [3, 13]. Основними збудниками інфекцій у цих закладах були бактерії родини *Enterobacteriaceae* (36 %), а саме: *E.coli*, *Klebsiella* spp, *Enterobacter*, *Proteus* spp [18].

Бактерії родини *Enterobacteriaceae* можуть спричиняти ранову інфекцію, сепсис, пневмонію, захворювання сечостатевої сфери. Їх частка при цьому становить близько 80-100 % [10]. Незважаючи на певні досягнення в галузі фармакотерапії в останні роки, кількість гнійно-запальних процесів в опікових та хірургічних клініках не зменшується [8]. Хірургічна ранова інфекція продовжує займати провідне місце в структурі ВЛІ, причому летальність від генералізації процесу сягає 70 % [5, 6, 12].

Серед представників родини *Enterobacteriaceae* найбільш частими збудниками гнійних процесів є *E.coli*, *Enterobacter*, *Proteus* spp, *Klebsiella* spp. Тяжкість перебігу характерна для процесів, зумовлених штамами, які продукують β-лактамази та виявляють полірезистентність до основних антимікробних засобів. У США частка бактерій кишкової групи як збудників хірургічної ранової інфекції складає близько

© Н.О. Вринчану – к.біол.н., 2004.

25 % [19]. Так, *E.coli* в 1959 р. у 50 % випадків була причиною гнійних процесів, а у 1977-1982 рр. відсоток зріс – 83 %. На сьогодні цей збудник продовжує займати провідне місце в структурі гнійно-запальних процесів [4].

Кишкова паличка та клебсієла в 10 % випадків є причиною виникнення ранової інфекції в онкологічних хворих з пухлинами голови та шиї, у 20 % – з пухлинами черевної порожнини. При рановій інфекції в жіночих статевих органах кишкова паличка в 7,7 %, а клебсієла в 15,4 % випадків була причиною післяопераційних ускладнень [10].

Важливу роль відіграють представники цієї родини у виникненні сепсису. Так, з 5058 випадків бактеріемій у 18,8 % причиною була *E.coli*, в 7,2 % – *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp* виявлено в 3,7 % випадків, а *Proteus mirabilis* – в 1,5 % [15].

Наведені в таблиці 1 дані свідчать про те, що *Enterobacteriaceae* найбільш стійкі до ампіциліну, піперациліну, амоксициліну/клавуланату, цефуроксиму та гентаміцину.

В Україні було проведено дослідження чутливості збудників гнійно-запальних процесів до антибіотиків серед 1511 клінічно ізольованих штамів мікроорганізмів 41 виду, з них 286 штамів (18,9 %) родини *Enterobacteriaceae* [20]. Результати, наведені в таблиці 2, свідчать про високу активність відносно до бактерій родини *Enterobacteriaceae* аміноглікозидів – нетилміцину та амікацину (98,7 та 97,6 % чутливих штамів), іміпенему (98 %), цефтазидиму (96,1 %), цефотаксиму та цiproфлoксацину (94,1 %). Найнижчою була чутливість до ампіциліну (56,6 % резистентних штамів), триметоприму/сульфаметоксазолу (61,1 %), тетрацикліну (44,4 %).

Таким чином, незважаючи на наявність значної кількості антимікробних засобів, проблема боротьби з інфекційними захворюваннями,

зумовленими представниками родини *Enterobacteriaceae*, залишається актуальною. Один із шляхів її розв'язання – пошук нових антибактеріальних засобів з широким спектром дії. У ході наших попередніх досліджень [9] було виявлено антимікробну активність у нового похідного адамантану – 4-(адамантил-1)-1-(1-амінобутил)бензолу.

Метою роботи було вивчити чутливість бактерій родини *Enterobacteriaceae* до нової похідної адамантану – 4-(адамантил-1)-1-(1-амінобутил)бензолу (шифр АМ-166). Сполуку синтезовано на Борщагівському хіміко-фармацевтичному заводі.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Антибактеріальні властивості було вивчено методом серійних розведень у соєво-казеїновому поживному середовищі [7] відносно *E.coli* ATCC 25922; *E.coli* 055K59 3912/41; *Serratia marcescens* 1; *Proteus vulgaris* ATCC 6896; *Klebsiella pneumoniae* ATCC 100031; *Klebsiella pneumoniae* K56 3534/51; *Enterobacter aerogenes* 10006; *Salmonella enterica* NCTC 6017. Посівна доза складала 1000 КУО на 1 мл середовища [16]. Контролем було поживне середовище без препарату. Пробірки інкубували протягом 24-48 год у термостаті при температурі 35-37 °С.

Антимікробну активність визначали за показником мінімальної пригнічувальної концентрації (МПК) та мінімальної бактерицидної концентрації (МБЦК). За МПК брали максимальне розведення сполуки, при якому візуально не спостерігається ріст мікроорганізму. Для визначення МБЦК сполуки з пробірок з візуальною відсутністю росту проводили засіви на м'ясо-пептонний агар (МПА). За МБЦК брали таку, яка при дослідженні *in vitro* протягом 24-48 год викликає загибель 99,9 % мікроорганізмів [16, 17].

Таблиця 1 – **Стійкість (%) нозокоміальних штамів родини *Enterobacteriaceae* до антимікробних засобів [13]**

Препарати	<i>E.coli</i> (n=489)	<i>K.pneumoniae</i> (n=389)	<i>Proteus spp</i> (n=263)	<i>Enterobacter spp</i> (n =203)
Ампіцилін	49,7	–	71,5	80,3
Піперацилін	40,9	68,4	37,6	44,8
Піперацилін/тазобактам	6,3	30,1	8,7	29,1
Амоксицилін/клавуланат	35,8	56,0	32,7	89,7
Цефуроксим	19,2	57,3	51,3	63,1
Цефотаксим	11,0	37,5	20,9	29,1
Цефтріаксон	11,5	40,4	17,5	30,5
Цефтазидим	7,8	33,7	6,9	24,6
Іміпенем	0	0	0	0
Гентаміцин	20,9	55,8	43,3	24,1
Амікацин	2,2	9,0	3,4	2,5
Цiproфлoксацин	8,4	12,0	8,7	5,9

Таблиця 2 – Резистентність штамів ентеробактерій до антибіотиків [19]

Препарати	Кількість штамів, %
Ампіцилін	56,6
Триметоприм/ сульфаметоксазол	61,1
Хлорамфенікол	31,6
Тетрациклін	44,4
Гентаміцин	11,7
Тобраміцин	11,0
Амікацин	2,4
Нетилміцин	1,3
Цефалотин	30,2
Цефтазидим	3,9
Цефотаксим	5,9
Ципрофлоксацин	5,9
Імпінем	2,0

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Дані проведених експериментів наведено в таблиці 3.

Отримані дані свідчать про те, що сполука AM-166 виявляла певну антибактеріальну активність відносно представників родини Enterobacteriaceae. МПК перебувала в межах 2,5-40 мкг/мл залежно від виду мікроорганізму.

Найбільш чутливими до дії сполуки виявились бактерії родів *E. aerogenes* (2,5 мкг/мл) та *E.coli* (5,0 мкг/мл). За рівнем активності до цих тест-мікроорганізмів AM-166 не поступалася таким препаратам, як ампіцилін (МПК – 2-8 мкг/мл), цефуроксим, хлорамфенікол (МПК – 0,5-12 мкг/мл та 4-8 мкг/мл, відповідно) [21]. Сполука AM-166 була менш активною відносно *Klebsiella pneumoniae* (МПК – 10-20 мкг/мл). *Proteus vulgaris*, *S.enterica*, *Serratia marcescens* проявили стійкість до речовини (МПК – 20-40 мкг/мл). МПК і МБцК збіглись, що свідчить про первинну бактерицидну властивість.

ВИСНОВОК. Проведені дослідження показали, що сполука 4-(адамантил-1)-1-(1-амінобутил)бензол виявляє активність відносно 4 з 8 представників родини Enterobacteriaceae. Це дає підстави для подальшого її вивчення в аспекті встановлення як широти антибактеріальної дії (не тільки стосовно родини Enterobacteriaceae), так і механізму інгібуючого ефекту.

Таблиця 3 – Антимікробна активність сполуки AM-166

Мікроорганізми	Концентрація, мкг/мл						
	40,0	20,0	10,0	5,0	2,5	1,25	0,6
<i>E.coli</i> ATCC 25922	–	–	–	–	+	+	+
<i>E.coli</i> 055K59 3912/41	–	–	–	–	+	+	+
<i>Serratia marcescens</i> 1	–	+	+	+	+	+	+
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 6896	–	+	+	+	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 100031	–	–	–	+	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i> K56 3534/51	–	–	+	+	+	+	+
<i>Enterobacter aerogenes</i> 10006	–	–	–	–	–	+	+
<i>Salmonella enterica</i> NCTC 6017	–	+	+	+	+	+	+

Примітка. "+" – повноцінний ріст мікроорганізму; "–" – відсутність росту.

ЛІТЕРАТУРА

- Бідненко С.І., Міхневич О.Е., Сапа С.А. та ін. Бактеріологічні дослідження та тактика лікування хворих з діабетичною стопою, ускладненою гнійно-некротичним ураженням // Клін. хірургія. – 2001. – № 3. – С. 38-40.
- Борисов Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология. – М.: Мед. инф. агенство, 2002. – 734 с.
- Брико Н.И. Особенности эпидемиологии внутрибольничных инфекций на современном этапе // Мед. сестра. – 2000. – № 2. – С. 41-43.
- Брискин Б.С., Хачатрян Н.И. Внутрибольничные инфекции и их профилактика: взгляд хирурга // Инф. контроль. – 2003. – № 2. – С. 9-12.
- Габрилянц Э.Я., Оргусян Д.Р. Резистентность микроорганизмов к антимикробным лекарствам на примере многопрофильной больницы: Тез. докл. 2-го Съезда Российского науч. об-ва фармакологов

- "Фундаментальные проблемы фармакологии". – М., 2003. – С. 113.
- Гавриш Р.В. Застосування цефтазидиму – КМП при запально-інфекційних захворюваннях за різних форм нейрохірургічної патології // Клін. антибіотикотерапія. – 2000. – № 6. – С. 30-32.
- Гельфанд Б.Р., Гологорский В.А., Гельфанд Е.Б. Кандидозная инфекция в хирургии и интенсивной терапии // Клін. антибіотикотерапія. – 2002. – № 2. – С. 23-30.
- Горшевикова Э.В. Особенности возбудителей гнойно-септических инфекций и их антибиотикорезистентность // Клинич. антибиотикотерапия. – 1999. – № 1. – С. 41-43.
- Даниленко Г.І., Шапіро А.В., Максимов Ю.М. та ін. Вивчення антимікробної дії сполуки 1-адамантил-4(1-амінобутил)бензол // Ліки. – 2002. – № 1-2. – С. 37 – 39.

10. Дмитриева Н.В. Инфекционные осложнения в онкологической клинике // Мед. сестра. – 1992. – № 1. – С. 17-18.
11. Козько В., Краснев М.И. Клинико-этиологические аспекты ассоциированных бактериальных кишечных инфекций // Сучасні інфекції. – 2001. – № 4. – С. 58-63.
12. Милонов О.Б., Тоскин К.Д., Жебровский В.В. Послеоперационные осложнения и опасности в абдоминальной хирургии. – М.: Медицина, 1990. – 559 с.
13. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / Под ред. Л.С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова, С.Н. Козлова – М.: 2002. – 375 с.
14. Сидоренко С.В. Инфекции, вызываемые микроорганизмами семейства Enterobacteriaceae // Клинич. антибиотикотерапия. – 2003. – № 1. – С. 5-10.
15. Сидоренко С.В. Факторы вирулентности микроорганизмов и перспективы противинфекционной терапии // Клинич. антибиотикотерапия. – 2001. – № 5-6. – С. 11-15.
16. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М.О. Биргера. – М.: Медицина, 1982. – С. 125-126.
17. Чемич М.Д., Бутко В.А. Сучасні підходи до терапії гострої дизентерії // Сучасні інфекції. – 2002. – № 1. – С. 75-81.
18. Чуев П.Н., Каташинский О.Ю., Коломийченко В.А., Носова О.В. Особенности нозокомиальных инфекций в отделениях интенсивной терапии // Инф. контроль. – 1999. – № 1. – С. 6-9.
19. Шалимов А.А., Грубник В.В., Ткаченко А.И., Осипенко О.В. Инфекционный контроль в хирургии. – Одесса: Маяк, 1998. – 140 с.
20. Шапіро А.В., Покас О.В. Антибіотики та їх дія на збудників опортуністичних та нозокоміальних інфекцій // Лаб. діагностика. – 2002. – № 3. – С. 23-28.
21. Conte J. Manual of Antibiotics and Infectious Diseases. – Philadelphia: Lea & Febiger, 1988. – P. 142-143.

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ 4-(АДАМАНТИЛ-1)-1-(1-АМИНОБУТИЛ)БЕНЗОЛА ПО ОТНОШЕНИЮ К ПРЕДСТАВИТЕЛЯМ СЕМЕЙСТВА ENTEROBACTERIACEAE

Н.А. Врынчану

ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ, КИЕВ

Резюме

В условиях *in vitro* проведено исследование антибактериальной активности нового производного адамантана по отношению к представителям семейства Enterobacteriaceae. Установлено, что наиболее чувствительны к действию соединения Enterobacter aerogenes и E.coli. Минимальная подавляющая и бактерицидная концентрации совпадают и составляют от 2,5 до 40 мкг/мл в зависимости от вида микроорганизма.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: энтеробактерии, антибактериальная активность, производное адамантана.

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF 4-(ADAMANTILE-1)-1-(1-AMINOBUTYL)BENZENE WITH RESPECT TO REPRESENTATIVES OF ENTEROBACTERIACEAE FAMILY

N.O. Vrynchanu

INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF AMS OF UKRAINE, KYIV

Summary

The antibacterial activity of the new adamantane derivative relative to representatives of Enterobacteriaceae family has been studied in *in vitro* conditions. The bacteria species Enterobacter aerogenes and E.coli were established to have the highest susceptibility to this antimicrobe compound. Minimum inhibiting and bactericidal concentrations of this compound coincide and vary from 2,5 mg/ml to 40 mg/ml depending on microorganism species.

KEY WORDS: antibacterial activity, Enterobacteriaceae, derivative of adamantane.

Отримано 09.04.2004 р.

Адреса для листування: Н.О. Врынчану, вул. Е. Потье, 14, Київ, 03057, Україна.

УТВОРЕННЯ АНТИГІПЕРТЕНЗИВНИХ ПЕПТИДІВ ПІД ЧАС ПРОТЕОЛІЗУ БІЛКІВ СИРУ

В.Г. Юкало

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ІВАНА ПУЛЮЯ

Фракцію низькомолекулярних пептидів виділяли з експериментальних сирів, виготовлених з різними штамми *Lactococcus lactis ssp. lactis*. Тестування пептидних фракцій показало наявність інгібіторів ангіотензинперетворювального ферменту (АПФ) у сирах, виготовлених з використанням штамів, здатних вивільняти інгібітори АПФ під час модельного протеолізу казеїнів. Було зроблено висновок про доцільність попереднього тестування лактококів при створенні заквасок для функціональних ферментованих молочних продуктів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: антигіпертензивні пептиди, казеїн, протеоліз, сир.

ВСТУП. На основі вивчення властивостей протеолітичних систем лактококів, які використовують для виробництва різноманітних ферментованих молочних продуктів, нами в 1991 році було зроблено припущення про можливість утворення біоактивних пептидів [3]. Такі пептиди можуть утворюватися в результаті протеолізу білків казеїнового комплексу молока ферментами молочнокислих бактерій та ферментами молокозсідних препаратів. Пізніше в нашій лабораторії було виявлено антигіпертензивні пептиди в продуктах модельного протеолізу індивідуальних субодиноць казеїну. Пептиди, здатні гальмувати активність ангіотензинперетворювального ферменту (АПФ), знайдено в низькомолекулярній фракції водорозчинних продуктів протеолізу α_{s1} - β -казеїну [3, 4]. У ряді робіт показано утворення багатьох біологічно активних пептидів з казеїну в процесах нормального травлення [6]. З іншої сторони, експериментальні підтвердження утворення біологічно активних пептидів власне у молочних продуктах під час їх виготовлення, дозрівання та зберігання майже відсутні. Перші наші спроби знайти такі пептиди у ферментованих молочних продуктах не дали позитивних результатів.

Метою даної роботи є виявлення антигіпертензивних пептидів у ферментованих молочних продуктах, вироблених із застосуванням штамів лактококів, здатних утворювати такі пептиди в модельних дослідах.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі використано описані раніше штами протеїназо-

© В.Г. Юкало – к.хім.н., 2004.

позитивних лактококів *Lactococcus lactis*, які зберігаються на кафедрі харчової біотехнології і хімії Тернопільського державного технічного університету ім. Івана Пулюя [4]. Пересіви лактококів здійснювали через кожні 20 днів.

Експериментальні сичужні сири виробляли у ванночках об'ємом 10 л у лабораторних умовах з використанням різних штамів лактококів. Сири виробляли як тверді сичужні сири з низькою температурою другого нагрівання [2].

Розчинні продукти протеолізу, екстраговані з експериментальних сирів, фракціонували методом гель-фільтрації на хроматографічних колонках (2×70 см, "Reanal", Угорщина), заповнених сефадексом G-25 fine ("Pharmacia", Швеція).

Концентрацію білків визначали на спектрофотометрі СФ-46 ($\lambda=280$ нм), використовуючи встановлений раніше коефіцієнт поглинання (D %/см): 8,2 для загального казеїну.

Молокозсідну активність ферментних препаратів визначали за відношенням до стандартного молокозсідного препарату активністю 100 000 одиниць за методом [1].

Протеоліз у сирі досліджували спектрофотометрично після екстракції розчинних при рН-4,6 (ізоелектрична точка казеїну) продуктів протеолізу. Заміри для перерахунку на концентрацію тирозину і триптофану проводили при довжині хвиль 270 і 280 нм [2].

Інгібіторну дію пептидних фракцій на АПФ визначали за модифікованим методом [7]. При цьому використовували АПФ (к.ф. 3.4.15.1) з легень кроля ("Sigma", США). Субстрат розчиняли в 0,1 М боратному буфері (рН=8,3) з

0,3 М NaCl. До 200 мкл розчину субстрату додавали 80 мкл пептидної фракції і вносили 20 мкл водного розчину АПФ (0,1 од./мл). Реакцію проводили при температурі 37 °С протягом 30 хв. Зупиняли реакцію шляхом додавання 250 мкл 1 М HCl. Гіпурову кислоту, яка утворилася під дією АПФ, екстрагували етилацетатом. Етилацетат випаровували при температурі 120 °С, залишок розчиняли у воді. Оптичну густину гіпурату вимірювали на спектрофотометрі СФ-46, довжина хвилі становила 228 нм. Ступінь гальмування активності ферменту при дії пептидів обчислювали за формулою:

$$I = \frac{B-A}{B-C} \times 100\%,$$

де А – оптична густина звільненої під дією АПФ гіпурової кислоти після закінчення реакції в присутності інгібіторів;

В – оптична густина проби без інгібіторів;
С – оптична густина проби без АПФ.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Для виробництва експериментальних сичужних сирів з низькою температурою другого нагрівання використовували як контрольну стандартну виробничу закваску лактококів, а також три закваски, до складу яких входили по два штами *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* (c_{12} і c_{13}) та *Lactococcus lactis* biovar *diacetylactis* (d_{11} і d_{17}). Відрізняються ці закваски складом штамів *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. До першої закваски було включено штами з малою протеолітичною активністю (l_5 , l_7 і l_{10}), а до другої – сильні протеолізи (l_{17} , l_{18} і l_{19}). У третьому випадку використовували штами, які в модельних дослідах показали здатність розщеплювати казеїни з утворенням пептидів – інгібіторів АПФ (l_3 , l_9 і l_{12}).

Проби для визначення інгібіторів АПФ відбирали на сорок п'ятий день ферментації, коли концентрація низькомолекулярних продуктів у сирах була найвищою (табл. 1). Для виділення водорозчинних фракцій пептидів до зразків сиру додавали два об'єми дистильованої води і гомогенізували. Після цього проводили екстракцію протягом 1 год при температурі 40 °С. Екстракт відділяли шляхом

центрифугування (3000 г, 20 хв), потім фільтрували його і повторно центрифугували (20000 г) протягом 30 хв. Одержані таким чином супернатанти розбавляли у два рази дистильованою водою і фракціонували методом гель-фільтрації. Екстракти з кожного зразка сиру наносили на хроматографічну колонку, заповнену сефадексом G-25 fine, зрівноважену дистильованою водою. Результати гель-фільтрації водорозчинних продуктів протеолізу, отриманих за участю штамів l_3 , l_9 і l_{12} , показано на рисунку 1. У всіх чотирьох випадках при гель-фільтрації водорозчинних компонентів було одержано подібні хроматографічні профілі, що включали три головні фракції і декілька мінорних.

Електрофоретичний аналіз показав, що перша фракція включає білки казеїнового комплексу та поліпептиди, дуже мало компонентів другої головної фракції проявляється на електрофореграмі й цілком не затримуються в поліакриламідному гелі компоненти третьої фракції. Проби, що входять до кожної хроматографічної фракції, об'єднували і висушували ліофільно. Усі фракції тестували на наявність інгібіторів АПФ. Інгібіторний ефект проявляли лише продукти третьої хроматографічної фракції з найменшою молекулярною масою, котрі виходять з колонки з об'ємом,

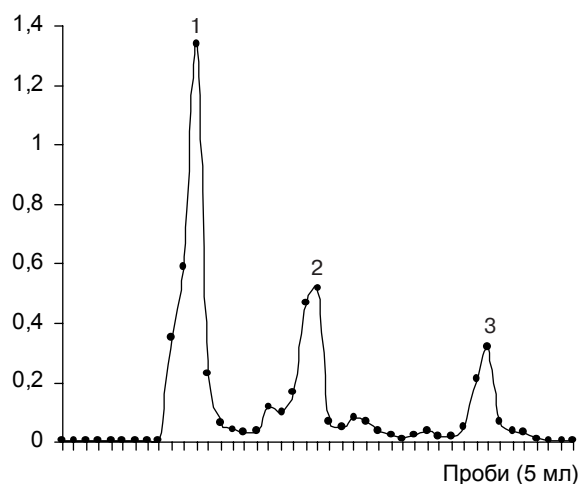


Рис. 1. Хроматограма водорозчинних продуктів протеолізу, отриманих за участю штамів *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, здатних розщеплювати казеїн з утворенням інгібіторів АПФ.

Таблиця 1 – Інгібіторна дія хроматографічної фракції низькомолекулярних продуктів протеолізу на активність АПФ ($M \pm m$, $n=5$)

№ за/п	Штами лактококів <i>L. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> , які використовували для виробництва сиру	Концентрація продуктів протеолізу, мл %	Інгібіторний ефект, %
1.	Контрольна промислова закваска	202±8	3,9
2.	l_5 , l_7 і l_{10}	195±7	5,2
3.	l_3 , l_9 і l_{12}	215±7	29,7
4.	l_{17} , l_{18} і l_{19}	249±8	7,3

близьким до повного об'єму колонки. В інших фракціях інгібіторний ефект відносно АПФ не виявлено. Результати тестування низькомолекулярних фракцій пептидів після гел'фльтрації показано в таблиці 1.

Можна відзначити, що інгібіторний ефект різною мірою проявився в третій фракції всіх тестованих зразків. Значно вищим є відсоток гальмування АПФ пептидами сиру, виробленого за участю штамів I_3 , I_9 і I_{12} . Протеолітичні ферменти цих штамів здатні розщеплювати казеїни в модельному протеолізі з утворенням інгібіторів АПФ. Причому інгібіторний ефект не має прямої залежності від загальної концентрації продуктів протеолізу в сирах.

Виробництво молочних продуктів супроводжується протеолітичним розщепленням білків казеїнового комплексу та, меншою мірою, білків сироватки молока. Усі протеолітичні процеси потенційно можуть призводити до утворення фізіологічно активних пептидів (ФАП) самостійно або в комбінації з протеазами шлунково-кишкового тракту (рис. 2). Найбільш імовірним є утворення ФАП під час виробництва твердих сичужних сирів, де в довготривалому протеолізі беруть участь фер-

ментні системи молочнокислих бактерій, а також протеази молокозсідних препаратів. У наукових публікаціях останніх років є повідомлення про виявлення інгібіторів АПФ у різних видах сирів [5]. Малоімовірно, що здатність вивільняти інгібітори АПФ та інші ФАП з казеїнів ферментами молочнокислих бактерій зумовлена еволюційно. Найімовірніше, це може відбуватися випадково завдяки широкій специфічності ферментів, які беруть участь у протеолізі, й (або) пов'язано з особливостями будови казеїнів, що зумовлюють доступність певних пептидних зв'язків. З огляду на сказане, привертає увагу розпад казеїну, який часто спостерігали у нашій лабораторії під час зберігання після виділення його в кислому середовищі. Це може бути наслідком специфічної протеолітичної активності самого казеїну і, відповідно, "автопротеолізу". Проте прямих експериментальних доказів того, що казеїн сам є протеолітичним ферментом, ми поки що не змогли отримати. Встановлення такої активності могло б частково пояснити складність будови і багатокомпонентність казеїну та значно розширити наші уявлення про властивості й функції казеїну як харчового та регуляторного білка.

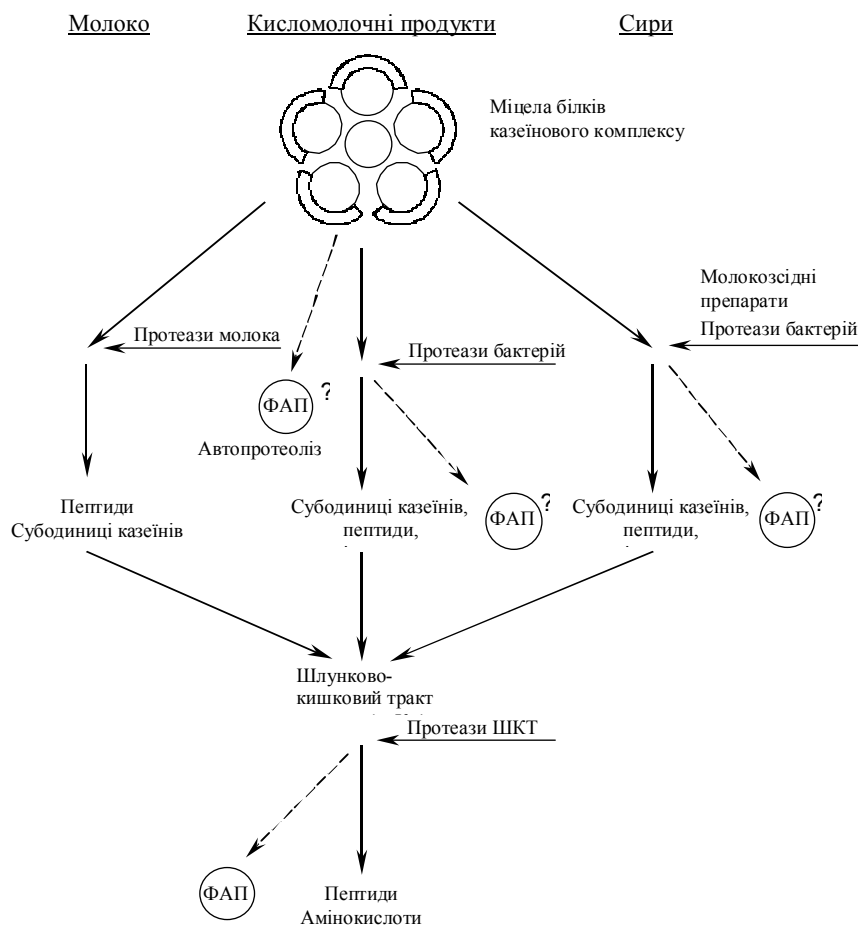


Рис. 2. Утворення ФАП із казеїнів у молоті, кисломолочних продуктах і сирах (схема).

ВИСНОВКИ. Штами лактококів, які розщеплюють казеїни під час модельного протеолізу з утворенням інгібіторів АПФ, можуть спричиняти утворення таких пептидних інгі-

біторів у сири. Попереднє тестування штамів на здатність утворювати інгібітори АПФ доцільно проводити при створенні заквасок для функціональних ферментованих молочних продуктів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Репелиус С. Применение коагулянтов ферментативного происхождения в производстве сыра // Сыроделие. – 1999. – № 3. – С. 13-15.
2. Шилер Г.Г. Технология сыра. – М.: Легкая и пищевая промышленность 1984. – 312 с.
3. Юкало В.Г., Шуляк Т.Л. Протеолиз казеинов ферментами молочнокислых стрептококков // Материалы докладов Всесоюзной конференции "Химические превращения пищевых полимеров". – Калининград, 1991. – С. 22.
4. Юкало В.Г. Вплив продуктів протеолізу α_{S1} -казеїну на активність ангіотензин-перетворюючого ферменту // Укр. біохім. журн. – 2001. – **73**, № 5. – С. 28-32.

5. Gomez-Ruiz J.A., Ramos M., Recio I. Angiotensin-converting enzyme-inhibitory peptides in Manchego cheeses manufactured with different starter cultures // International Dairy Journal. – 2002. – **12**. – P. 697-706.
6. Meisel H., Bockelman W. Bioactive peptides encrypted in milk proteins: proteolytic activation and tropho-functional properties // Antonie van Leeuwenhock. – 1999. – **76**. – P. 207-215.
7. Nakamura Y., Yamamoto N., Sakai K., Takano N. 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.

ОБРАЗОВАНИЕ АНТИГИПЕРТЕНЗИВНЫХ ПЕПТИДОВ ВО ВРЕМЯ ПРОТЕОЛИЗА БЕЛКОВ СЫРА

В.Г. Юкало

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ИВАНА ПУЛЮЯ

Резюме

Фракцию низкомолекулярных пептидов выделяли из экспериментальных сыров, изготовленных с разными штаммами *Lactococcus lactis ssp. lactis*. Тестирование пептидных фракций показало наличие ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) в сырах, изготовленных с использованием штаммов, способных освобождать ингибиторы АПФ во время модельного протеолиза казеинов. Был сделан вывод о целесообразности предварительного тестирования лактококков при составлении заквасок для функциональных ферментированных молочных продуктов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: антигипертензивные пептиды, казеин, протеолиз, сыр.

PRODUCTION OF ANTIHYPERTENSIVE PEPTIDES DURING THE PROTEOLYSIS OF CHEESE PROTEINS

V.G. Yukalo

TERNOPIL STATE TECHNICAL UNIVERSITY BY I. PULUY

Summary

The low molecular weight peptides were obtained from experimental cheeses manufactured with different strains of *Lactococcus lactis ssp. lactis*. It was shown that cheese containing angiotensin-converting enzyme-inhibitory (ACEI) peptides was produced by using selected strains of lactococci, which are capable to release ACEI peptides from caseins during model proteolysis. The previous selection of lactococci may be useful for the functional fermented milk products manufacturing.

KEY WORDS: antihypertensive peptides, casein, proteolysis, cheese.

Отримано 09.04.2004 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.

ФІБРИНОЛІТИЧНИЙ ПОТЕНЦІАЛ ПЛАЗМИ КРОВІ

Є.М. Краснобрижа, О.М. Савчук, Г.Л. Волков
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ

Досліджено стан системи фібринолізу за допомогою тестів визначення часу загального лізису еуглобулінів та активності тканинного активатора плазміногену в нормі та при різних патологічних станах. Розглянуто інформативну цінність цих тестів для аналізу фібринолітичного потенціалу плазми крові. Розраховано індекс тромботичного ускладнення при різних патологіях, які пов'язані з порушеннями системи гемостазу, та обґрунтовано його використання з метою аналізу дисбалансу в цій системі.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: фібринолітичний потенціал плазми крові, тканинний активатор плазміногену, індекс тромботичного ускладнення, визначення загального часу лізису еуглобулінів.

ВСТУП. Головним призначенням системи згортання крові є зупинка кровотечі при ушкодженні судин (гемостаз) для попередження значних крововтрат. Утворення фібрину – тимчасовий етап у загоєнні ран, тому що починається ферментативний лізис згустка незабаром після виникнення. Наявний антагоніст системи згортання крові – фібринолітична система з великою потенційною активністю – запобігає закупоренню просвіту судин депозитами фібрину в процесі безперервного гемостазу. Таким чином, головною функцією фібринолітичної системи є розчинення фібринових згустків.

Центральна реакція фібринолізу – перетворення плазміногену в плазмін реалізується ендо- й екзогенними активаторами (рис. 1). В організмі людини синтезується 2 типи активаторів плазміногену. Один з них – тканинний активатор плазміногену (ТАП) – головним чином бере участь у розчиненні фібрину, що знаходиться в просвіті кровоносних судин. Інший – урокіназний тип активатора плазміногену (УАП) – призначений переважно для розчинення фібрину, розпластаного на поверхні клітин, у тому числі й тих, котрі вистилають просвіт кровоносних судин ізсередини (ендотеліальні клітини) (рис. 1).

Виникнення тромботичного ускладнення, як правило, пов'язують з появою гіперактивації системи згортання крові. Існуюча теорія про безперервний процес згортання крові постулює про те, що в разі надмірного вираження цього процесу при багатьох захворюваннях він

© Є.М. Краснобрижа, О.М. Савчук – к.біол.н., Г.Л. Волков – д.біол.н., 2004.

виявляється клінічно і позначається лікарями як синдром дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові (ДВЗ-синдром). Правильніше було б говорити про те, що гіперкоагуляція призводить до появи тромботичної загрози, а перехід до тромботичного ускладнення цілком залежить від здатності системи фібринолізу вчасно і якісно зреагувати на появу в кровотоці розчинного фібрину, який свідчить про наявності ДВЗ-синдрому (рис. 2). Здатність системи фібринолізу охороняти організм від виникнення тромботичного ускладнення залежить від її потенціалу (рис. 2), що забезпечується сукупністю всіх ферментів – активаторів, здатних перетворювати плазміноген у його активну форму – плазмін. У плазмі крові фібринолітичний потенціал на 80-90 % визначає активність ТАП, саме від нього залежить, наскільки ефективною буде відповідь фібринолітичної системи на появу в кровотоці розчинного фібрину. Визначення фібринолітичного потенціалу може надавати інформацію про стан системи фібринолізу та її здатність запобігати тромботичним ускладненням.

У медичній практиці України широко використовують тест визначення часу загального лізису еуглобулінів (ЧЗЛЕ), результати якого можуть надавати інформацію про стан фібринолітичного потенціалу крові. Також застосовують тести з визначення вмісту плазміногену, α_2 -антиплазміну, фібринолізу за рахунок активації фактора XII. Інформація про вміст цих білків системи фібринолізу має діагностичну цінність. Але, за винятком ряду патологій (в основному пов'язаних із захворюваннями печінки), визначення даних параметрів не дає

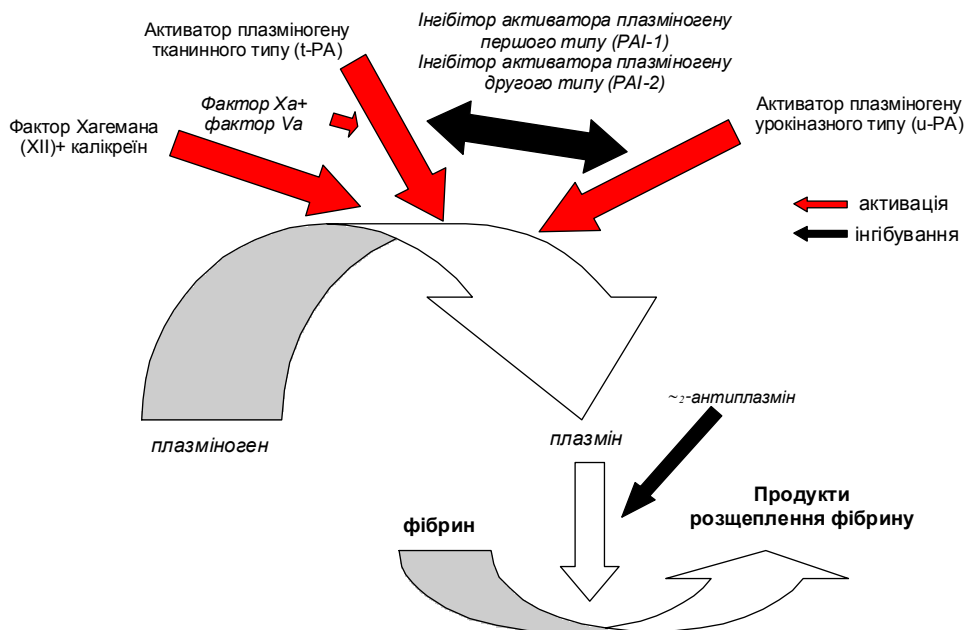


Рис. 1. Схема каскаду фібринолітичної системи.

повної інформації про здатність фібринолітичного потенціалу протистояти можливій гіперактивації системи згортання крові. Останнім часом з'явилась можливість визначати вміст й активність безпосередньо ТАП і його інгібітора першого типу (ПАІ-1) у плазмі крові. З діагностичної точки зору, інформативною є активність цих білків, а не їх вміст, тому що кількість білка може бути, внаслідок деяких причин, підвищена, а активність знижена і навпаки.

У нашому відділі "Структура та функції білка" Інституту біохімії НАН України було модифіковано й адаптовано для клінічного застосування методи визначення активності ТАП і ПАІ-1. Використовуючи ці методи і тест визначення часу загального лізису еуглобулінів, ми порівнювали їхню інформативність за характеристикою фібринолітичного потенціалу плазми крові при різних патологіях, пов'язаних із системою гемостазу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У плазмі крові практично здорових донорів та пацієнтів з патологіями, пов'язаними із системою гемостазу, визначали вміст розчинного фібріну (РФ) [1], активність ТАП [6] та ПАІ-1 [6], ЧЗЛЕ [2].

Індекс тромботичного ускладнення визначали за допомогою формули:

$$ІТУ = - \text{РФп} / (\text{ТАПд} - \text{ТАПп}),$$

де ІТУ – індекс тромботичного ускладнення;
РФп – вміст розчинного фібріну в досліджуваній плазмі крові в умовних одиницях;

ТАПд – активність тканинного активатора плазміногену в плазмі крові практично здорових людей (донорів крові);

ТАПп – активність тканинного активатора плазміногену в досліджуваній плазмі крові.

У нормі ІТУ дорівнює 0. Чим більше показник ІТУ відрізняється від нуля, тим вищий дисбаланс у системі гемостазу хворого. Якщо ІТУ має від'ємний знак, то це свідчить про зниження потенціалу системи фібринолізу, яка не повною мірою виконує свою функцію. У кровотоці накопичується РФ, внаслідок чого можливим є тромбоутворення. Якщо ІТУ має додатне значення, то це свідчить про високий потенціал фібринолітичної системи на фоні гіперактивації системи згортання крові, що також загрожує виникненням тромботичних ускладнень [9].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Визначення ЧЗЛЕ та активності ТАП у плазмі крові за різних умов дало можливість порівняти ці два тести. Визначення ЧЗЛЕ в плазмі практично здорових донорів, в яку було додано фібриноген (0,5-5 мг/мл), показало неінформативність даного тесту (табл. 1).

Дані, представлені в таблиці 1, свідчать про неможливість адекватного визначення ЧЗЛЕ при патологіях, які супроводжуються різкими коливаннями вмісту як фібриногену, так і розчинного фібріну (який є його похідним) (табл. 2). Також, мабуть, не варто порівнювати коливання активності фібринолітичної системи та вмісту фібриногену, використовуючи даний тест.

При певних патологіях, які супроводжуються введенням в організм людини певної кількості активаторів плазміногену, цей тест також може бути неінформативним (табл. 3).

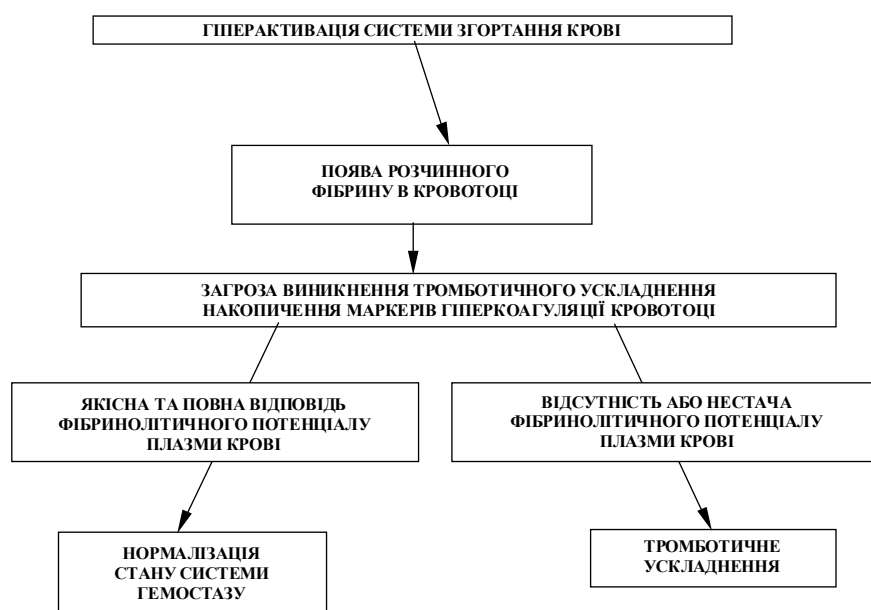


Рис. 2. Взаємозв'язок каскаду системи згортання крові й фібринолітичного потенціалу системи гемостазу.

Як видно з представлених даних, визначення ЧЗЛЕ не може надати інформацію про фібринолітичний потенціал або ця інформація є помилковою. У пацієнтів № 1-5 неможливо визначити ЧЗЛЕ, тому що не утворюється фібриновий згусток. Це відбувається тому, що введення стрептокінази (Ск) ініціює генералізовану активацію плазміногену в кровотоці, який, у свою чергу, розщеплює нативний фібриноген плазми крові. Розщеплення фібриногену призводить до утворення фібринових згустків з аномальною структурою, які важко гідролізувати фібринолітичній системі, або фібринові згустки не утворюються зовсім.

Аналіз отриманих даних свідчить про можливість використання тесту визначення часу загального лізису еуглобулінів тільки як скринінг-тесту і для одержання попередньої інформації про потенціал фібринолітичної системи, яку треба обов'язково перевіряти, застосовуючи такі тести: визначення вмісту плазміногену, α_2 -антиплазміну, активності та рівня ТАП і ПАІ-1, урокінази, та інші параметри залежно від завдань, які стоять перед дослідником.

Визначення активності ТАП у плазмі крові при різних патологічних станах, які пов'язані із системою гемостазу, не залежить від вмісту та якості фібриногену і присутності в плазмі інших активаторів плазміногену (табл. 3, 4).

З результатів, наведених у таблицях, видно, що визначення активності ТАП у плазмі крові може бути об'єктивним параметром системи гемостазу, який характеризує здатність фібринолітичної ланки своєчасно та максимально відповідати на можливе тромбоутво-

рення в кровотоці. Даний тест є досить легким у виконанні й може використовуватись як з діагностичною метою, так і для контролю за ефективністю тромболітичної та антикоагулянтної терапії.

Аналіз активності ПАІ-1 при різних патологіях, прямо або опосередковано пов'язаних із системою гемостазу, показав тісний зв'язок з активністю ТАП у плазмі крові [4, 6, 8]. Не викликає сумніву, що активність ПАІ-1, спрямована на інгібування фізіологічної дії ТАП, повинна змінюватися у обернено-пропорційному відношенні до активності ТАП. Звичайно, існують певні стани організму, при яких ця залежність не спостерігається [6], що може бути пов'язано з адаптаційними або компенсаторними явищами в системі гемостазу при даному фізіологічному (патологічному) стані організму. Отримана нами інформація свідчить про інформативність тесту з визначення активності ПАІ-1 у плазмі крові. Даний тест, як і тест визначення активності ТАП, дуже простий у виконанні й може використовуватись для діагностики і контролю за проведенням відповідної терапії при різних патологіях системи гемостазу.

Разом із тим, проведені нами дослідження стану системи гемостазу за різних патологій, які пов'язані із системою гемостазу [3, 5], дозволили запропонувати ІТУ за допомогою якого можна пов'язати активність ТАП та вміст РФ, який є головним прогностичним маркером дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові. Оскільки ТАП характеризує фібринолітичний потенціал плазми крові, а РФ показує ступінь активації системи згортання, розра-

хунок даного індексу дозволить визначати ступінь дисбалансу між цими двома ланками системи гемостазу (табл. 5).

Тісний взаємозв'язок між параметрами активності ТАП та вмісту РФ не є методичною помилкою, про це свідчать дані таблиці 3, тому цифрове значення ІТУ об'єктивне та несе в собі фізіологічний зміст. Наведені дані (табл. 4) свідчать про те, що визначення ІТУ можливе при різних патологіях, які навіть напряду не пов'язані з системою гемостазу. Разом із тим, аналіз індексу дозволить оцінити ступінь дисбалансу в системі гемостазу та визначити, яка її ланка потребує додаткових досліджень.

У ході досліджень [7] було виявлено тісний взаємозв'язок ІТУ з іншими параметрами системи гемостазу, які показують ступінь дисбалансу в даній системі.

ВИСНОВКИ. 1. Показано інформативну цінність визначення часу загального лізису еуглобулінів та активності тканинного активатора плазміногену в плазмі крові за різних умов.

2. Визначено індекс тромботичного ускладнення за різних патологій та обґрунтовано важливість його визначення для отримання інформації про ступінь дисбалансу в системі гемостазу.

Таблиця 1 – **Визначення часу загального лізису еуглобулінів при різному вмісті фібриногену в плазмі крові**

Фібриноген, мг/мл	2,5	3	3,5	4,5	5,5	6,5	7,5
ЧЗЛЕ, год	1,5	2,3	3,5	5,8	7,2	8,3	12,6

Таблиця 2 – **Визначення ЧЗЛЕ й активності ТАП у пацієнтів з високим показником РФ у плазмі крові**

ЧЗЛЕ, год	12	5,2	6	5,1	4,3	7,5
РФ, г/л	0,03	0,045	0,03	0,09	0,045	0,09
ТАП, іо/мл	2,01	3,8	2,4	2,4	2,6	1,98

Таблиця 3 – **Визначення ЧЗЛЕ та активності ТАП у пацієнтів з гострим інфарктом міокарда, яких лікували стрептокіназою**

	ЧЗЛЕ, год	ТАП, іо/мл
Норма	1,5-2	2,05
пацієнт № 1	-	5,84
пацієнт № 2	-	0,38
пацієнт № 3	-	10,3
пацієнт № 4	-	0,58
пацієнт № 5	-	1,6
пацієнт № 6	6	6,33
пацієнт № 7	6,3	5,8
пацієнт № 8	0,45	0,25
пацієнт № 9	2,45	4,8

Таблиця 4 – **Визначення активності ТАП у різних модельних системах**

Система	плазма	плазма+10 од./мл Ск	плазма+25 од./мл Ск
Параметр ТАП, іо/мл	1,45	1,5	1,45
Система	плазма	плазма+0,03 г/л РФ	плазма+0,12 г/л РФ
Параметр ТАП, іо/мл	1,21	1,2	1,1

Таблиця 5 – **Розрахунок ІТУ в пацієнтів з опіками, хворих на діабет та вагітних жінок напередодні кесаревого розтину**

Патології	Опіки	Діабет	Вагітні жінки
Пацієнти пацієнт №1	-1,5	-0,23	4
пацієнт №2	-0,75	-0,78	2,35
пацієнт №3	-0,36	0,55	0,81
пацієнт №4	-7,56	1,98	0,12
пацієнт №5	0,15	-3,31	-0,44
пацієнт №6	-3,35	-6,8	1,5

ЛІТЕРАТУРА

1. Варецька Т.В., Михаловська Л.І., Світальська Л.О., Єна Я.М. Визначення розчинного фібрину в плазмі крові // Клініч. лаб. діагностика. – 1992. – № 7-8. – С. 10-14.
2. Методы исследования фибринолитической системы крови / Под ред. Г.В. Андреевко- М.: Изд-во Моск. ун-та, 1981. – 131 с.
3. Платонова Т.М., Ровінська І.М., Савчук О.М. та ін. Стан системи гемостазу при гострому інфаркті міокарда в ході лікування стрептокіназою// Лаб. діагностика. – 2001. – № 1. – С. 3-6.
4. Платонова Т.М., Савчук О.М., Горницька О.В. та ін. Особливості порушень стану системи гемостазу при цукровому діабеті // Мед. хімія. – 2002. – 4, № 2. – С. 5-9.
5. Платонова Т.Н., Савчук А.Н., Ровинская И.Н. та ін. Определение активности тканевого активатора плазминогена и содержания растворимого фибрина в плазме больных с различными патологиями // Лаб. диагностика. – 2000. – № 2. – С. 15-19.
6. Савчук О.М., Гамісонія М.Ш., Кізім О.І., Платонова Т.М. Значимість деяких показників фібринолітичної системи в оцінці стану гемостазу // Фізіол. журн. – 2001. – 47, № 3. – С. 58-62.
7. Савчук О.М., Краснобрижа Є.М., Чернищенко Т.М. та ін. Спосіб прогнозування розвитку внутрішньосудинного зсідання крові // Лаб. діагностика. – 2002. – № 2. – С. 51-54.
8. Савчук О.М., Платонова Т.М., Козинець К.Г., Малинська Л.М. Діагностика порушень системи гемостазу при глибоких опіках // Експерим. та клініч. фізіологія і біохімія. – 2002. – № 2. – С. 44-47.

ФИБРИНОЛИТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ПЛАЗМЫ КРОВИ

Е.Н. Краснобрыжая, А.Н. Савчук, Г.Л. Волков
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ ИМ. А.В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАИНЫ, КИЕВ

Резюме

Исследовано состояние системы фибринолиза с помощью тестов определения времени общего лизиса эуглобулинов и активности тканевого активатора плазминогена в норме и при разных патологических состояниях. Рассмотрено информативную ценность этих тестов для анализа фибринолитического потенциала плазмы крови. Рассчитан индекс тромботического осложнения при различных патологиях, которые связаны с нарушениями системы гемостаза, и обосновано его использования с целью анализа дисбаланса в этой системе.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фибринолитический потенциал плазмы крови, тканевой активатор плазминогена, индекс тромботического осложнения, определение времени общего лизиса эуглобулинов.

FIBRINOLYTIC POTENTIAL OF BLOOD PLASMA

Y.M. Krasnobryzha, O.M. Savchuk, H.L. Volkov
INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY BY O.V. PALLADIN OF NAS OF UKRAINE, KYIV

Summary

Fibrinolytic system condition in norm and during different pathologies was studied by means of euglobulin lysis time determination and tissue type plasminogen activity tests. The information value of these tests was analyzed for diagnostics of fibrinolytic potential of blood plasma. It was calculated the index of thrombotic complication at different pathologies of haemostasis system. The index of its using has been proved for analysis the dysbalance in this system.

KEY WORDS: fibrinolytic potential of blood plasma, tissue type plasminogen activator, index of thrombotic complication, determination of euglobuline total lysis time.

Отримано 13.02.2004 р.

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

ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ РОДІОЛИ РІДКОГО НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ІНТОКСИКАЦІЇ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

Н.В. Давидова, І.Ф. Мещишен
БУКОВИНСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

Вивчали вплив екстракту родіоли рідкого (ЕЕР) на функціональний стан печінки щурів за умов інтоксикації тетрахлорметаном (CCl₄). Встановлено, що введення ЕЕР при інтоксикації CCl₄ призводить до зниження синдрому цитолізу, нормалізації окиснювальних процесів, метаболізму ліпідів та білірубину, посилення регенераторних процесів у печінці.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **тетрахлорметан, токсичний гепатит, екстракт родіоли рідкий.**

ВСТУП. Кількість токсичних уражень печінки зростає з року в рік, що пов'язано з широким розповсюдженням у побуті та на виробництві хімічних речовин, які проявляють гепатотоксичну дію. Тетрахлорметан (CCl₄) має високу персистентність у навколишньому середовищі, кумулятивні властивості та при надходженні в організм будь-якими шляхами здатен ушкоджувати печінку, викликаючи дозозалежні зміни з боку функції та морфологічної структури [6]. Неминучим для будь-якого токсичного ураження печінки є підвищення рівня перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [2, 3]. Тому актуальним є пошук нових гепатопротекторних антиоксидантних препаратів, зокрема рослинного походження.

Метою роботи було вивчення впливу екстракту родіоли рідкого на функціональний стан печінки щурів за умов експериментального токсичного гепатиту.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на білих безпородних щурах масою (150±10) г, яких утримували в умовах віварію з вільним доступом до їжі та води. Експериментальний токсичний гепатит моделювали шляхом дворазового (через день) внутрішньошлункового введення CCl₄ у вигляді 50 % олійного розчину з розрахунку 0,25 мл/100 г маси тіла. Екстракт родіоли рідкий (ЕЕР) вводили внутрішньошлунково в дозі 0,01 мл/кг маси тіла щоденно після останнього введення CCl₄. Тварин декапітували під легким ефірним наркозом на 5-ту і 10-ту доби введення екстракту. Шматочки

© Н.В. Давидова, І.Ф. Мещишен – д.біол.н., проф., 2004.

тканини печінки фіксували в нейтральному забуференому формаліні, проводили через висхідну батарею спиртів і заливали у чистий парафін-віск. Гістологічні зрізи після депарафінізації забарвлювали гематоксиліном та еозином і вивчали під світловим мікроскопом МБР-15. Кров стабілізували шляхом додавання ЕДТА з розрахунку 1 мг/мл. 5 % гомогенат печінки готували на льоду з використанням трис-НС1 буфера (50 мМ, рН=7,4). У пост'ядерному супернатанті гомогенату печінки визначали вміст малонового діальдегіду [7], окисномодифікованих білків [4], загальної білка, загальних ліпідів; у плазмі – активність аланінамінотрансферази (АлАТ) та аспаратамінотрансферази (АсАТ), вміст загального білірубину і сечовини із застосуванням стандартних наборів, вироблених ООО НПП "Филісит діагностика" (Україна). Результати оброблено статистично з використанням t-критерію Стьюдента та представлено в таблиці 1.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Патоморфологічні зміни досягали максимального рівня на 5-ту добу гострого періоду токсичного гепатиту. Основні ураження спостерігалися в периферичних відділах печінкових часточок (рис. 1). Ураження гепатоцитів характеризувалися розвитком зернистої та гідропічної дистрофії, мікроемуляційного стеатозу (рис. 2).

У реалізації молекулярних механізмів пошкодження гепатоцитів провідна роль належить активним метаболітам та інтермедіатам CCl₄, що утворюються в процесі його біотранс-

Таблиця 1 – Показники функціонального стану печінки щурів за умов інтоксикації тетрахлорметаном та введення екстракту родіоли рідкого (M±m; n=6-8)

Умови досліджувані показники	Контроль	5-та доба		10-та доба	
		Гепатит	Гепатит+ родіола	Гепатит	Гепатит+ родіола
Заг. білок, мг/г тканини	333,3±42,77	186,3±20,66*	205,7±28,00*	278,9±30,86*	332,6±24,39
Заг. ліпіди, мг/г тканини	22,0±3,10	71,6±7,18*	56,8±4,38*	39,1±2,74*	28,85±8,37
Сечовина, ммоль/л	12,2±1,24	5,1±1,78*	5,7±1,56*	6,9±0,31*	11,5±1,06
АлАТ, мкмоль/год·мл	0,54±0,085	1,22±0,072*	1,08±0,082*	1,17±0,320*	0,79±0,320
АсАТ, мкмоль/год·мл	0,74±0,167	1,60±0,248*	1,35±0,375*	1,31±0,229*	0,80±0,213
Білірубін, мкмоль/л	8,5±2,11	25,3±4,56*	13,3±1,29*	20,8±3,97*	9,9±3,62
ОМБ (370 нм), ммоль/г білка	1,99±0,281	3,57±0,050*	3,08±0,364*	2,96±0,461*	2,46±0,294*
Малоновий діальдегід, мкмоль/г тк.	38,9±2,56	49,9±0,56*	45,3±0,58*	56,9±2,18*	40,9±2,10

Примітка. * – достовірні зміни порівняно з контролем.

формації за участю цитохром-Р-450-залежних монооксигеназ [6]. Вільнорадикальні похідні мають високу реакційну здатність, атакують метиленові містки ненасичених жирних кислот, ініціюючи ланцюг ліпопероксидації.

Посилення процесів ПОЛ підтверджують результати біохімічного дослідження вмісту кінцевого продукту ПОЛ – малонового діальдегіду – в печінці, який перевищував рівень контролю на 28 та 46 % на 5-ту і 10-ту доби відповідно. Вільнорадикальному окисненню піддаються і білкові молекули, про що свідчить збільшення вмісту окисномодифікованих білків у печінці в усі терміни експерименту.

Індукований CCl_4 стеатоз зумовлений порушенням функції мітохондрій, інгібуванням β -окиснення жирних кислот та сповільненням транспорту ліпопротеїнів із печінки в кров [1]. Встановлено зростання вмісту загальних ліпідів у печінці щурів у 3,2 та 1,7 раза на 5-ту і 10-ту доби експерименту.

Найбільш токсичним продуктом розпаду фосfolіпідів мембран є лізофосфатидилхолін, що призводить до деструкції мембран, як наслідок, до некрозу паренхіми печінки [2]. Встановлено, що на 5-ту добу експерименту поруч із дистрофічно зміненими клітинами печінки часто розташовувались клітини з морфологічними ознаками колікваційного некрозу, що зумовлювало значну дисконкомплексцію печінкових балок (рис. 1).

Синдром цитолізу супроводжувався вивільненням гіалоплазмових та лізосомальних ферментів, що підтверджувало зростання активності АлАТ та АсАТ у сироватці крові в усі терміни експерименту. Внаслідок некрозу гепатоцитів розвивався внутрішньопечінковий холестаза, про що свідчило підвищення вмісту загального білірубину в сироватці крові.

Пошкодження організації мембранних структур супроводжувалося інактивацією мембранозв'язаних рецепторів та більшості внутрішньоклітинних ферментів. При цьому послаблювались антитоксична функція печінки, порушувались синтетичні процеси, розвивалась гіпоксія. Відмічено зниження білоксинтетичної функції печінки: вміст загального білка в печінці був на 79 та 20 % меншим від рівня контролю на 5-ту і 10-ту доби відповідно. Окисномодифіковані білки піддавалися швидкій деградації, що також може спричинити зниження вмісту білків у печінці. Вміст сечовини в сироватці крові за умов інтоксикації був у 2,4 та 1,8 раза меншим від рівня контролю на 5-ту і 10-ту доби експерименту відповідно.

CCl_4 викликав загибель гепатоцитів за механізмом як некрозу, так і апоптозу [9]. Відмічено зміни гепатоцитів, які зазвичай характерні для різних морфологічних стадій апоптозу, такі, як конденсація ядерного хроматину, сепарація його у периферичний відділ ядра, ущільнення цитоплазми, фрагментація ядра з одночасним збереженням цитоплазматичної мембрани (утворення апоптотичних тілець) (рис. 2). Вважають, що вирішальне значення в розвитку апоптозу належить рецепторонезалежному механізму, який ініціюється неспецифічними факторами (NO, активні форми кисню) [5, 9].

На 10-ту добу експерименту в інтоксикованих тварин поєднана зерниста та гідропічна дистрофія печінкових клітин залишалася на рівні 5-ї доби, стеатозу не спостерігалось. Відмічалися збільшення кількості двоядерних гепатоцитів, що прийнято вважати посиленням регенерації цих клітин, подальше зростання числа об'єктів із характерними морфологічними ознаками апоптозу. Лейкоцитарних

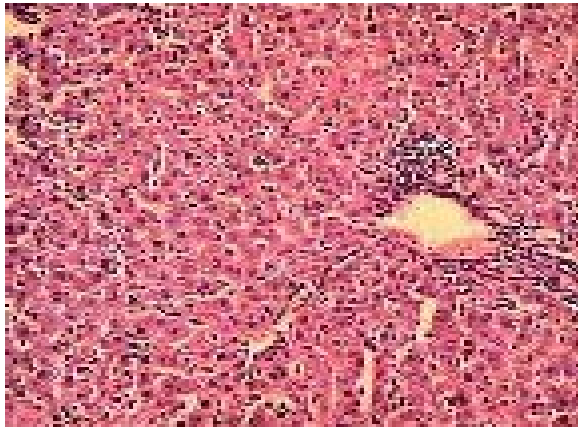


Рис. 1. Інтоксикація тетрахлорметаном, 5-та доба. Печінка, гематоксилін та еозин, x 120.



Рис. 2. Інтоксикація тетрахлорметаном, 5-та доба. Печінка, гематоксилін та еозин, x 1200.

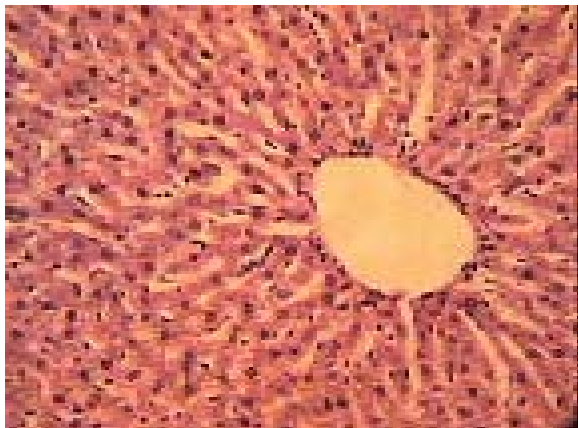


Рис. 3. Введення екстракту родіоли рідкого на фоні інтоксикації тетрахлорметаном, 5-та доба. Печінка, гематоксилін та еозин, x 120.

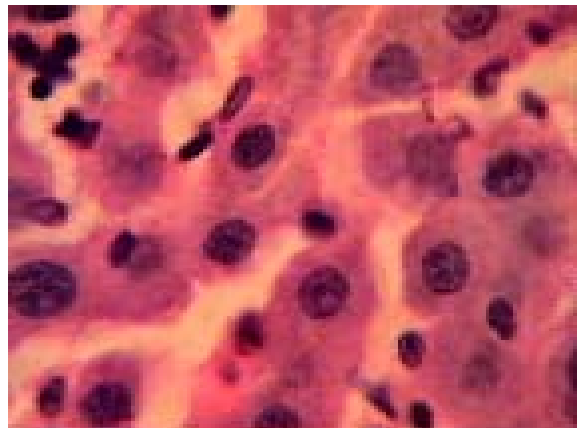


Рис. 4. Введення екстракту родіоли рідкого на фоні інтоксикації тетрахлорметаном, 5-та доба. Печінка, гематоксилін та еозин, x 1200.

інфільтратів не спостерігалось, запалення було представлено виключно гранулематозною формою.

Екстракт родіоли рідкий містить ряд речовин, які є природними антиоксидантами: тирозол, органічні кислоти, флавоноїди (катехіни, проантоціанідини) [8]. Існують дані про антиоксидну активність екстракту та його складових за умов *in vivo* та *in vitro* [8, 9]. Введення тваринам екстракту родіоли рідкого впродовж 5 днів на фоні експериментального токсичного гепатиту супроводжувалось менш вираженими ознаками гідропічної та зернистої дистрофії. В окремих клітинах спостерігалися морфологічні ознаки колікваційного некрозу. Ознак запалення не було. Структура печінкових балок зберігалася (рис. 3). На 10-ту добу введення препарату уражень гепатоцитів не виявлено. Будова печінкових балок повністю зберігалася. Цитоплазма характеризувалася гомогенністю або ледве помітною зернистістю без істотного збільшення розмірів гепатоцитів (рис. 4). Морфологічні об'єкти з ознаками, характерними

для апоптозу, відшукувалися з великими труднощами. Ознак запалення не відмічено. Поряд із цим, відзначено нормалізацію вмісту малонового діальдегіду, загальних ліпідів. Вміст окисномодифікованих білків перевищував рівень контролю на 20 %. Ці дані свідчать про нормалізацію процесів вільнорадикального окиснення біомолекул. Вміст білірубину, сечовини, активність АлАТ та АсАт у сироватці крові достовірно не відрізнялись від рівня контролю.

ВИСНОВОК. Введення тваринам екстракту родіоли рідкого на фоні інтоксикації CCl_4 призводить до швидкої нормалізації функціонального стану печінки. Імовірно, лікувальна дія екстракту пов'язана з антиоксидною дією фенольних сполук у його складі, які сприяють обмеженню ПОЛ, стабілізації мембран, субклітинних структур і тим самим перешкоджають руйнуванню та загибелі гепатоцитів.

Перспективою подальших досліджень є вивчення гепатопротекторної дії екстракту родіоли рідкого за умов інтоксикації CCl_4 .

ЛІТЕРАТУРА

1. Буевров А.О., Маевская М.В. Некоторые патогенетические и клинические вопросы неалкогольного стеатогепатита // Клинич. перспективы гастроэнтерол. и гепатол. – 2003. – № 3. – С. 2-8.
2. Венгеровский А.И., Чучалин В.С., Паульс О.В., Саратиков А.С. Влияние гепатопротекторов на метаболизм липидов при CCl_4 -гепатите // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1987. – **103**, №4. – С. 430-432.
3. Ивашкин В.Т. Клеточная и молекулярная биология воспаления печени // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. и колопроктол. – 1999. – № 5. – С. 13-17.
4. Мешишен І.Ф. Метод визначення окиснювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // Буковин. мед. вісник. – 1998. – **2**, № 1. – С. 156-158.
5. Пентюк А.А., Мороз Л.В., Паламарчук О.В. Поражение печени ксенобиотиками // Совр. пробл. токсикол. – 2002. – № 2. – С. 8-16.
6. Скаун Н.П., Писько Г.Т., Мосейчук И.П. Поражение печени четыреххлористым углеродом. – М.: НИИТЭХИМ, 1989. – 107 с.
7. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М., 1977. – С. 66-68.
8. Kelli G.S. Rhodiola rosea: A possible plant adaptogen // Altern. Med. Rev. – 2001. – **6**, № 3. – P. 293-302.
9. Mook-Jung I., Kim H., Fan W. Neuroprotective effects of constituents of the oriental crude drugs, Rhodiola sacra, R. sachalinensis and Tokaku-joki-to, against beta-amyloid toxicity, oxidative stress and apoptosis // Biol. Pharm. Bull. – 2002. – **25**, № 8. – P. 1101-1104.

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА РОДИОЛЫ ЖИДКОГО НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

Н.В. Давыдова, И.Ф. Мешишен
БУКОВИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

Резюме

Изучали влияние экстракта родиолы жидкого (ЭРЖ) на функциональное состояние печени крыс при интоксикации тетрахлорметаном (CCl_4). Установлено, что введение ЭРЖ при интоксикации CCl_4 приводит к снижению синдрома цитолиза, нормализации окислительных процессов, метаболизму липидов и билирубина, усилению регенераторных процессов в печени.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: тетрахлорметан, токсический гепатит, экстракт родиолы жидкий.

THE EFFECT OF RHODIOLA ROSEA LIQUID EXTRACT ON THE LIVER FUNCTIONAL STATE UNDER CONDITIONS OF TETRACHLOROMETHANE INTOXICATION

N.V. Davydova, I.F. Meshchysheh
BUKOVYNIAN STATE MEDICAL ACADEMY

Summary

The efficacy of using the Rhodiola rosea liquid extract (RRE) on the liver functional state under conditions of tetrachloromethane intoxication was investigated. It was established that oral administration of RRE promoted the reducing of cytolytic syndrome, normalization of the oxidative processes, lipid and bilirubin metabolism, increasing of regeneration processes in the liver.

KEY WORDS: tetrachloromethane, toxic hepatitis, Rhodiola rosea liquid extract.

Отримано 17.02.2004 р.

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

ПОКАЗНИКИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ТА МЕТАБОЛІЧНОЇ АКТИВНОСТІ У ПЕЧІНЦІ КОРОПА ЗА ДІЇ НА ОРГАНІЗМ ТОКСИЧНОЇ КОНЦЕНТРАЦІЇ ІОНІВ МІДІ ТА ЦИНКУ

А.Є. Мудра

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В. ГНАТЮКА

Вплив іонів міді (П) і цинку (П) протягом 14 діб на коропа у концентраціях 0,5 мг/л і 5,0 мг/л відповідно, за яких перевищується детоксикаційна здатність металотіонеїнів у печінці, викликає зростання активності каталази в тканині. За дії іонів цинку спостерігається більш значне розбалансування функції антиоксидно-прооксидної системи, ніж за дії іонів міді, мають місце також підвищення активності лужної фосфатази та зменшення вмісту молекул середньої маси в печінці.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: мідь, цинк, короп, печінка, антиоксидантний захист, біомаркери.

ВСТУП. Серед важких металів, біологічні функції яких в організмі гідробіонтів вивчено найкраще, перш за все слід назвати цинк і мідь. Цинк є есенціальним мікроелементом, який за роллю в організмі поступається лише залізу [17]. Інтерес до можливостей його використання у рибному господарстві та забруднення прісних водойм сполуками цинку роблять актуальним вивчення діпазону стимулювальних і токсичних концентрацій цього металу для риб. Мідь, незважаючи на її необхідність для виконання біологічних функцій, насамперед для забезпечення окисно-відновних процесів, для риб вважається другим за токсичністю металом після ртуті [5]. Обидва типи іонів у печінці риб мають подібні шляхи детоксикації, пов'язані з їх кон'югацією із тіоловими сполуками – білками металотіонеїнами та трипептидом глутатіоном [11, 17].

Проведене нами дослідження дії на коропа протягом 14 діб іонів міді та цинку в концентраціях, які близькі до екологічно реальних (відповідно, 0,01 і 0,1 мг/л), та концентраціях, більших у 20 разів, показало, що дія іонів міді, порівняно із цинком, викликає значно більші зміни прооксидного характеру [4, 12], що узгоджується з меншою здатністю металотіонеїнів печінки зв'язувати надлишок міді, ніж цинку [10, 13]. Тому становило інтерес дослідження стану антиоксидно-прооксидної системи печінки коропа та клінічних показників, які використовують у тестуванні гепатотоксичності за дії на організм таких концентрацій іонів міді й цинку, для яких встановлено пере-

© А.Є. Мудра, 2004.

вищення детоксикаційної здатності металотіонеїнів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводились на коропі лускатому (*Cyprinus carpio L.*) масою 200-250 г, попередньо адаптованому до акваріальних умов. Риб утримували протягом 14 діб у басейнах об'ємом 200 л при температурі близько 18 °С у відстояній, добре аерованій воді. У кожній дослідній групі було по 6 особин. Воду в басейнах міняли кожні дві доби, поновлюючи в ній вміст металу. Концентрація іонів металів у вигляді сульфатів становила для міді (II) 0,5 мг/л, а для цинку (II) 5,0 мг/л. Присутність сульфату в даній концентрації не призводить до перевищення природного фону цього аніона.

Для аналізу брали передню частку печінки. Усі процедури з виділення та обробки зразків проводили на холоді. Активність супероксиддисмутази (СОД) (К.Ф. 1.15.1.1) визначали за інтенсивністю відновлення нітротетразолію і НАДН [15], активність каталази (К.Ф. 1.11.1.6) – за методом [4], лужної фосфатази (К.Ф. 3.1.3.1) та фосфату – за допомогою стандартних наборів реактивів "Lachema", концентрацію відновленого глутатіону (небілкових тіолів) – за допомогою реактиву Елмана [16].

Інтенсивність переоксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) оцінювали, застосовуючи тіобарбітурову кислоту (ТБК), як утворення ТБК-активних продуктів, серед яких переважає один з кінцевих продуктів ПОЛ – малоновий діальдегід [9].

Визначали також вміст молекул середньої маси [6]. Для виділення загальних білків печінки їх осаджували у 20 об'ємах 0,5 н HClO_4 , відокремлювали шляхом центрифугування та промивали в такій послідовності: у 5 об'ємах етанолу, суміші метанолу і хлороформу (2:1) та у діетиловому етері. Після висушування в термостаті при температурі 37 °С білок розчиняли в 1 мл 0,5 н KOH , витримуючи суміш декілька годин добу в термостаті. Загальний вміст білків у печінці визначали за методом Лоурі й ін.

Результати обробляли статистично з обчисленням t-критерію Стьюдента. За результатами визначення показників стану антиоксидно-прооксидної системи обчислювали інтегральний показник – коефіцієнт антиоксидного стану (КАС) – як відношення сум показників стану антиоксидних (А) і прооксидних (П) факторів: $\text{КАС} = \Sigma \text{А} / \Sigma \text{П}$. Кожний показник визначали за формулою:

$$1 \pm (M_d - M_k) / M_k,$$

де 1 – характеристика показника в нормі; M_d і M_k – середньоарифметичні значення показників відповідно дослідної і контрольної серій.

До "А" відносили такі показники, як активність СОД, каталази, вміст небілкових тіолів у тканині, до "П" – вміст ТБК-активних продуктів. За такої кількості даних у контролі КАС становить 3,0.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Обрані нами для дослідження концентрації іонів міді й цинку перевищують їх середній вміст у водоймах близько як у 50 разів та відповідають 5 ГДК цих іонів у рибогосподарських водоймах. Як видно з одержаних нами результатів (табл. 1, 2), за таких умов дії іони міді не викликають істотних змін більшості досліджуваних показників. Лише активність каталази зростає, що є характерною ознакою токсичності сульфату міді для риб [2].

За дії іонів цинку в коропа спостерігається збільшення активності лужної фосфатази, що, на тлі постійного вмісту фосфату в тканині, свідчить про активацію цинкозалежних процесів трансфосфорилування [17]. Вміст молекул середньої маси, визначений за показником світлопоглинання при 254 нм, зменшується, тоді як цей показник, визначений при 280 нм, достовірно не змінюється. Це свідчить про те, що дані зміни пов'язані перш за все з нуклеотидами і тіолами.

Вплив іонів цинку на коропа призводить до істотних змін показників антиоксидно-прооксидного стану в печінці. Активність СОД пригнічується, а каталази підвищується порівняно

з контролем. Вміст небілкових тіолів зростає в три рази порівняно з контролем. Збільшення утворення ТБК-активних продуктів свідчить про те, що ці зміни, в кінцевому рахунку, призводять до активації ПОЛ.

Як відомо, перевищення детоксикаційної здатності природних молекулярних мішеней зв'язування іонів металів викликає відповідь з боку неспецифічних антистресорних систем організму. Залежно від умов дії токсиканту розрізняють такі стадії розвитку загального синдрому адаптації: тривоги, резистентності та виснаження [8]. Як видно з результатів визначення вмісту молекул середньої маси та обчислення коефіцієнта антиоксидного стану, за експериментальних умов не спостерігається відповідь за типом "гострої фази", яка пов'язана із зростанням рівня низькомолекулярних пептидів та сигнального спалаху ПОЛ на тлі активації антиоксидних ферментів [1]. Разом із тим, порівняння дії двох металів показує, що іони цинку викликають більш активну відповідь метаболізму, ніж іони міді. Дані про вміст небілкових тіолів, представлених переважно глутатионом, також свідчать про те, що за дії цинку створюються умови для детоксикації надлишку цього металу, адже екскреція цинку в жовч близько на 80 % залежить від цих тіолів [11, 17]. Проте їх накопичення може створювати небезпеку посилення прооксидних процесів у тканині за рахунок автоокиснення з утворенням активних форм кисню [7]. Про таку активацію свідчить, очевидно, збільшення активності такого індукцибельного ферменту антиоксидного захисту, як каталаза, яке ми спостерігали. Відзначене нами зменшення активності СОД вважають специфічною ознакою токсичності іонів цинку у вищих тварин і людини. Відсутність такої відповіді за дії іонів міді є, очевидно, проявом виснаження неспецифічних сигнальних систем печінки.

У ході досліджень, проведених в умовах, аналогічних до тих, які ми створили в нашому експерименті, було показано, що за дії іонів міді й цинку на коропа спостерігається чітко виражена концентраційна залежність відповіді металотіонеїнів печінки. Вона полягає в тому, що концентрація іонів, яка наближена до їх реального вмісту у водоймах, викликає адаптивну відповідь у вигляді посилення функції металотіонеїнів, у 20 разів більша концентрація призводить до пригнічення функції металотіонеїнів [10, 13]. Відповідно, змінюється і стан показників антиоксидантного захисту тканини від нормального або активованого до значного пригнічення [4, 12]. Вплив концентрації металів, яка в 50 разів перевищувала фонову і яку ми

Таблиця 1 – Вплив іонів міді й цинку на активність ферментів печінки коропа ($M \pm m$, $n=5$)

Дослідна група	Активність супероксиддисмутази, ум.од./г тканини	Активність каталази, мкат/г тканини	Активність лужної фосфатази, мкмоль фосфату/мг білків • с
Контроль	0,59±0,07	26,6±2,6	0,96±0,06
Мідь	0,56±0,06	33,7±3,0*	0,99±0,03
Цинк	0,21±0,01*	39,0±3,5*	1,18±0,01*

Примітка. Тут і в таблиці 2: * – зміни, порівняно з контролем, достовірні, ($p < 0,05$).

Таблиця 2 – Вплив іонів міді й цинку на вміст деяких метаболітів у печінці коропа ($M \pm m$, $n=5$)

Вміст у тканині	Дослідна група		
	Контроль	Мідь	Цинк
Низькомолекулярні тіоли, мкмоль/г тканини	1,65±0,04	1,68±0,05	5,04±0,50*
Молекули середньої маси (D_{280}), ум. од./г тканини	306,8±12,6	299,8±28,1	277,6±13,9
Молекули середньої маси (D_{254}), ум. од./г тканини	581,0±17,8	554,0±37,8	394,0±52,3*
Фосфат неорганічний, мкг/г тканини	3,40±0,17	3,02±0,12	2,95±0,18
ТБК-активні продукти, мкмоль/г тканини	26,7±1,8	30,0±3,0	49,5±6,6*
Коефіцієнт антиоксидантного стану, % відхилення від контролю	–	-3,4	-12

використали в даному експерименті, викликає акумуляцію міді й цинку у високомолекулярних компонентах тканини, серед яких не відомі спеціалізовані детоксикаційні системи для цих металів [11, 13, 17]. Як свідчать одержані нами результати, дія міді у такій концентрації не пов'язана із системою антиоксидного захисту. Однак саме за таких умов іони міді спричиняють стимуляцію сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази в печінці коропа на тлі накопичення міді в мітохондріях, що може відігравати роль компенсаторного пристосування [14] і деякою мірою пояснювати відсутність змін з боку досліджуваних нами показників. Функцію СОД можуть виконувати і хелати міді. Можливо, ці факти пояснюють, що при надлишку міді інтенсивність ПОЛ значно менша, ніж при дії цинку.

За дії іонів цинку активність сукцинатдегідрогенази відповідає контролю, а цитохро-

моксидази – пригнічується порівняно з контролем, причому метал акумулюється не в мітохондріях, а в цитозолі [14]. Очевидно, такі відмінності у розподілі надлишку металу між компартментами клітин, спеціалізованими і неспецифічними мішенями зв'язування та в ефективності пристосувальних змін енергозабезпечення в мітохондріях можуть пояснювати принципово різний стан антиоксидного захисту в тканині за дії іонів міді й цинку на коропа.

ВИСНОВОК. Перевищення функціональних можливостей детоксикаційної металозв'язувальної системи печінки коропа відносно міді проявляється збільшенням активності каталази печінки. За дії високої сублетальної концентрації іонів цинку на коропа спостерігаються зміни прооксидного характеру, активація лужної фосфатази та зменшення вмісту молекул середньої маси в печінці.

ЛІТЕРАТУРА

1. Арцимович Н.Г., Ломакин М.С., Казанский Д.Б., Настоящая Н.Н. Биологически активные молекулы, ассоциированные с клетками печени // Усп. соврем. биол. – 1991. – **111**, № 6. – С. 932-947.
2. Колупаев Б.И., Путинцева В.А. Активность дыхательных ферментов у рыб в токсической среде // Гидробиол. журн. – 1986. – 22, № 2. – С. 66-68.
3. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
4. Мудра А.Є., Столяр О.Б. Вплив сублетальної концентрації іонів міді на метаболічну активність та прооксидантно-антиоксидантний стан гепатопанкреасу коропа // Наукові записки Тернопільського пед-

університету. Серія: Біологія. – Тернопіль, 2001. – № 3(14). – С. 218-219.

5. Мур Дж., Рамамурти С. Тяжелые металлы в природных водах: Пер. с англ. – М.: Мир, 1987. – 265 с.

6. Николайчик В.В., Моин В.М., Кирковский В.В. и др. Способ определения средних молекул // Лаб. дело. – 1991. – № 10. – С. 13-18.

7. Пентюк О.О., Луцюк М.Б., Андрушко І.І., Постовітенко К.П. Метаболізм гомоцистеїну та його роль у патології // Укр. біохім. журн. – 2003. – **75**, № 1. – С. 5-17.

8. Руденко С.С. Антипероксидантно-пероксидантний статус тварин у біотопах з підвищеною

рухомістю алюмінію: Автореф. дис.... д-ра біол. наук: 03.00.16 / Київ. нац. ун-т ім. Тараса Шевченка. – К., 2000. – 39 с.

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. Столяр О.Б. Вплив іонів цинку, марганцю та свинцю на термостабільні білки печінки коропа // Укр. біохім. журн. – 2003. – **75**, № 1. – С. 85-89.

11. Столяр О.Б. Металотіонеїни в організмі водних тварин // Біологія тварин. – 2003. – **5**, № 1-2. – С. 9-22.

12. Столяр О.Б., Мудра А.Є., Клебан О.Л., Костюк С.А. Вплив сублетальних концентрацій йонів цинку на метаболічну функцію та антиоксидантно-прооксидантний статус гепатопанкреасу коропа // Наукові записки Тернопільського педуніверситету. Серія: Біологія. – Тернопіль, 2001. – № 1 (12). – С. 97-100.

13. Столяр О.Б., Хоменчук В.О., Арсан В.О., Гру-

бірко В.В. Роль низькомолекулярних сірковмісних сполук гепатопанкреасу коропа у зв'язуванні іонів міді // Доп. НАН України. – 2001. – № 3. – С. 198-203.

14. Хоменчук В.О., Балабан Р.Б., Курант В.З., Грубірко В.В. Активність деяких ферментів у мітохондріях печінки та зябер коропа за інтоксикації йонами важких металів // Наук.-техн. бюл. Інституту землеробства і біології тварин. – Львів, 2001. – Вип. 1-3. – С. 159-162.

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

16. Sedlak J., Lindsay R.H. Estimation of total, protein-bound and non-protein sulphhydryl groups in tissue with Ellmans Reagent // Anal. Biochem. – 1968. – **25**, № 1. – P. 192-205.

17. Vallee B.L. Zinc: biochemistry, physiology, toxicology and clinical pathology // Biofactors. – 1988. – **1**, №1. – P. 31-36.

ПОКАЗАТЕЛИ АНТИОКСИДНОЙ ЗАЩИТЫ И МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В ПЕЧЕНИ КАРПА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ ТОКСИЧНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ИОНОВ МЕДИ И ЦИНКА

А.Е. Мудрая

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. В. ГНАТЮКА

Резюме

Влияние ионов меди (П) и цинка (П) на протяжении 14 суток на карпа в концентрациях 0,5 мг/л и 5,0 мг/л соответственно, превышающих детоксикационную способность металлотіонеинов в печени, вызывает возрастание активности каталазы в ткани. При воздействии ионов цинка наблюдается более значительное разбалансирование функции антиоксидно-прооксидной системы, чем при воздействии ионов меди, имеют место также повышение активности лужной фосфатазы и уменьшение содержания молекул средней массы в печени.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: медь, цинк, карп, печень, антиоксидная защита, биомаркеры.

INDICES OF ANTIOXIDATIVE PROTECTION AND METABOLIC ACTIVITY IN THE LIVER OF CARP AT ACTION ON THE ORGANISM OF TOXIC CONCENTRATION OF COPPER AND ZINC IONS

A.Ye. Mudra

TERNOPIL STATE PEDAGOGICAL UNIVERSITY BY V. HNATIUK

Summary

Action of copper and zinc ions during 14 days on a carp in concentration of 0,5 mg/l and 5,0 mg/l accordingly exceeds the disintoxicative ability of the metallothioneins in liver and causes the growth of activity of catalase in the tissue. At action of zinc ions is observed more considerable imbalance of the function of antioxidative-prooxidative system than at action of copper ions. There is also the increasing of alkaline phosphatase activity and diminishment of contents of medium mass molecules in liver.

KEY WORDS: copper, zinc, carp, liver, antioxidative protection, biomarkers.

Отримано 26.03.2004 р.

Адреса для листування: А.Е. Мудра, Тернопільський державний педагогічний університет ім. В. Гнатюка, Тернопіль, Україна.

Медична хімія — т. 6, № 2, 2004

ВИВЧЕННЯ МЕХАНІЗМУ ПОТЕНЦІЮВАННЯ ДИКЛОФЕНАКУ НАТРІЮ АМІНОЦУКРОМ ГЛЮКОЗАМІНОМ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНИХ ЗОНДІВ

І.А. Зупанець, С.Б. Попов, С.К. Шебеко, І.А. Отрішко
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Наведено результати вивчення механізмів потенціювання диклофенаку натрію аміноцукром глюкозаміну гідрохлоридом на модельних мембранах клітин – ліпосомах методом флуоресцентного аналізу з використанням зонда – 1-анілінонафталін-8-сульфонату (1,8-АНС).

При вивченні спектрів флуоресценції зонда в присутності концентрацій глюкозаміну, які зростали, відмічено незначне підвищення флуоресценції, що пояснюється утворенням на поверхні ліпосом позитивного заряду та збільшенням спорідненості з ними негативнозарядженого 1,8-АНС. У разі наявності диклофенаку натрію спостерігалось незначне зниження флуоресценції, що свідчить про адсорбцію препарату на поверхні ліпосом. Розраховані константи дисоціації показали більшу спорідненість диклофенаку натрію з фосфоліпідами модельних мембран клітин, ніж глюкозаміном ($K_d(D)=10^{-3} M$; $K_d(ГА)=5 \cdot 10^{-3} M$).

Введення диклофенаку натрію в розчин ліпосом з попередньо введеним глюкозаміном призводило до суттєвого зниження флуоресценції, а отже, й до підвищення спорідненості диклофенаку натрію з модельними мембранами. При цьому його константа дисоціації була в 3 рази меншою, ніж на попередньому етапі досліджень, – $K_d(D+ГА)=3,3 \cdot 10^{-4} M$.

Вивчення мембранотропних властивостей даної комбінації методом флуоресцентних зондів показало досить високу її спорідненість з фосфоліпідами біомембран, що й зумовлює ефект потенціювання та більшу біодоступність диклофенаку натрію в присутності глюкозаміну гідрохлориду.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: диклофенак натрію, глюкозаміну гідрохлорид, флуоресцентні зонди, ліпосоми, механізм потенціювання.

ВСТУП. Відомо, що одним із визначальних критеріїв ефективності лікарського препарату є біодоступність, яка значною мірою залежить від його фізико-хімічних властивостей та здатності проникати через чисельні біологічні бар'єри в організмі, на що, у свою чергу, впливає рівень спорідненості фармакологічної субстанції з біомембранами [7].

У ряді літературних джерел показано, що зміни в спорідненості лікарських речовин з модельними мембранами можуть впливати на параметри фармакокінетики, а отже, і на фармакологічну активність лікарських речовин [6, 16].

У раніше проведених нами експериментальних дослідженнях показано, що при поєднаному застосуванні диклофенаку натрію та глюкозаміну гідрохлориду відмічається ефект потенціювання, який проявляється зниженням DE_{50} диклофенаку натрію при збереженні високого рівня фармакологічної активності [4, 8].

Оскільки глюкозамін (ГА) є позитивно зарядженою гідрофільною речовиною, місце локалізації якої часто знаходиться в глікокаліксі на

поверхні цитоплазматичних мембран різних клітин [3, 9], то можна припустити, що у механізмі потенціювального ефекту ГА та диклофенаку натрію має місце фармакокінетична складова.

Метою даної роботи стало вивчення механізму впливу аміноцукру глюкозаміну гідрохлориду на зв'язування диклофенаку натрію з мембранами клітин, а також визначення ролі поверхневого заряду в механізмі зв'язування заряджених лікарських речовин, зокрема диклофенаку натрію, з біологічними мембранами.

Для досягнення поставленої мети було досліджено спорідненість диклофенаку натрію в присутності глюкозаміну гідрохлориду і окремо диклофенаку натрію та ГА з модельними мембранами клітин – ліпосомами.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. З метою вивчення зв'язування досліджуваних речовин з модельними мембранами, а також механізмів впливу ГА на спорідненість диклофенаку натрію з ліпосомами, використовували метод флуоресцентних зондів, що є класичним та широко застосовується в молекулярній біології та фармакології для подібних досліджень [1, 2, 17].

Як флуоресцентний зонд використовували 1-анілінонафталін-8-сульфонат (1,8-АНС) виробництва фірми "Serva" (Німеччина) [10, 12, 13]. Флуоресценцію для зонда 1,8-АНС збуджували при довжині хвилі 365 нм, а максимум інтенсивності флуоресценції спостерігали при 475 нм. Зонд вводили в ліпосоми з його водного розчину. Кінцева концентрація зонда в ліпосомах склала 5 мкМ [2, 14, 15].

Ліпосоми одержували шляхом ультразвукової обробки багатошарових везикул з фосфатидилхоліну в концентрації 0,05 % на частоті 22 кГц протягом 10-15 хв при температурі 4 °С в 0,1 М трис-буфері з рН 7,2 за методикою, описаною в [1].

Спектри флуоресценції реєстрували на спектрофлуориметрі SIGNE-4M (Латвія).

Відомо, що негативно заряджений зонд 1,8-АНС здатний розчинятися у воді та ліпофільній фазі (мембрани клітин), проте інтенсивність флуоресценції зонда різко зростає при переході його в ліпофільне оточення мембрани, і навпаки, у воді відбувається гасіння флуоресценції зонда молекулами води [2, 11]. Цю властивість використовують для визначення спорідненості (констант дисоціації) різних лікарських речовин з мембранами модельних та інтактних клітин по витісненню зонда з ліпідів мембран у воду молекулами лікарської речовини і відповідному зниженню інтенсивності флуоресценції [2, 13, 15, 16].

Для визначення констант дисоціації (K_d) досліджуваних речовин з ліпосомами готували стандартні розчини ГА та диклофенаку натрію такої концентрації, щоб при введенні невеликих об'ємів лікарських речовин спостерігалися помітні зміни інтенсивності флуоресценції зонда в ліпосомах. Попередні дослідження показали, що стосовно диклофенаку натрію стандартні розчини для титрування ліпосом склали 10^{-2} М, а обраний діапазон об'ємів стандартного розчину, який вводили в ліпосоми, становив від 5 до 100 мкл. Відносно водорозчинного глюкозаміну, що має невелику спорідненість з фосфатидилхоліновими ліпосомами, стандартний розчин склав $5 \cdot 10^{-2}$ М- 10^{-1} М.

K_d досліджуваних об'єктів з ліпосомами оцінювали за значеннями I_{50} – концентрацією речовини, введеної в ліпосоми, при якій інтенсивність флуоресценції зонда знижувалась вдвічі, а також графічним методом у зворотних координатах [2].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. На початковому етапі досліджень було вивчено спектри флуоресценції зонда в присутності концентрацій диклофенаку натрію та глюкозаміну гідрохлориду, які зростали (рис. 1).

Негативно заряджений зонд 1,8-АНС чутливо реагує на зміну заряду мембрани: спорідненість з мембранами зростає при збільшенні позитивного заряду на мембрані й знижується при зміні заряду мембрани на негативний.

При вивченні спектрів флуоресценції зонда в присутності концентрацій ГА, які зростали, відмічено незначне підвищення інтенсивності флуоресценції зонда в ліпосомах. Це пояснюється наявністю позитивного заряду на аміногрупі глюкозаміну та відсутністю ліпофільного фрагмента в його молекулі, здатного занурюватися в ліпідний бішар мембрани.

У разі вивчення флуоресценції зонда при введенні диклофенаку натрію в розчин ліпосом спостерігається незначне зниження інтенсивності флуоресценції порівняно з контрольною пробкою. Імовірно, у механізмі зв'язування диклофенаку натрію його карбоксильна група відіграє головну роль, здійснюючи іон-іонну взаємодію з холіновою голівкою фосфатидилхоліну, що не дозволяє мати на поверхні мембран достатню для відштовхування зонда кількість вільних негативних зарядів. Тому в експерименті концентрації диклофенаку натрію, який вводять у ліпосоми, не дають можливості одержати значення I_{50} (зниження інтенсивності флуоресценції у 2 рази).

Криві в зворотних координатах для ГА та диклофенаку натрію представлено на рисунках 2 і 3, вони дозволяють графічно визначити константи взаємодії цих речовин з ліпосомами. K_d для глюкозаміну гідрохлориду складає $5 \cdot 10^{-3}$ М, для диклофенаку натрію – 10^{-3} М.

Аналізуючи розраховані для досліджуваних об'єктів K_d , можна зробити висновок, що спорідненість ГА з фосфоліпідами ліпосом менш виражена, ніж у диклофенаку, що пояснюється відсутністю в молекулі ГА гідрофобного фрагмента. Разом із тим, низька спорідненість ГА з ліпідами мембран також відповідає його природі й виконуваним функціям. В організмі ГА дуже мобільний і перш за все спрямований на взаємодію з ферментами: він інгібує колагеназу, фосфоліпазу A_2 , а також ферменти лізосом [4, 5]. Незважаючи на низькі значення константи зв'язування ГА з ліпідами модельних мембран (ліпосом), в організмі він швидко проникає через біологічні бар'єри при внутрішньому та пероральному введенні. Очевидно, у механізмі доброї проникності ГА через інтактні мембрани лежать кілька моментів: низька молекулярна маса; заряд, що дозволяє швидко сорбуватися на поверхні мембран; цукровий залишок у молекулі, що споріднений з глікокаліксом поверхні цитоплазматичних мембран різних клітин.

Помірні мембранотропні властивості диклофенаку натрію пояснюють його мембрано-

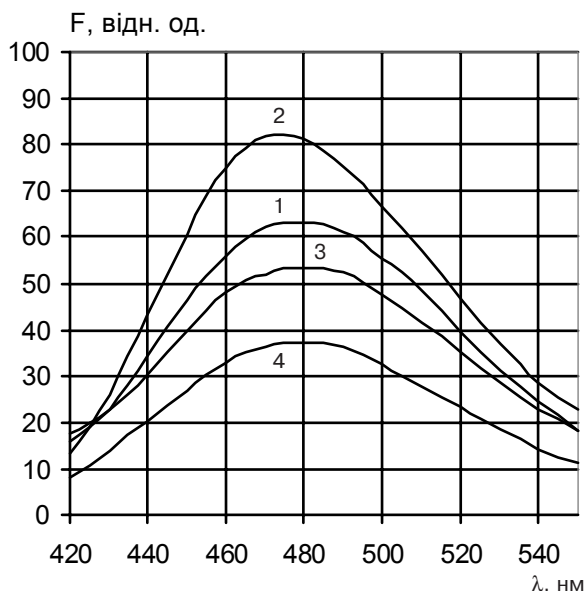


Рис. 1. Спектри флуоресценції зонда 1,8-АНС в суспензії ліпосом:

1 – контроль; 2 – в присутності глюкозаміну гідрохлориду ($8,3 \cdot 10^{-5}$ M); 3 – в присутності диклофенаку натрію ($3,3 \cdot 10^{-4}$ M); 4 – в присутності глюкозаміну гідрохлориду ($8,1 \cdot 10^{-5}$ M) та диклофенаку натрію ($3,1 \cdot 10^{-4}$ M).

стабілізувальну дію в організмі та зменшення проникності біомембран під його впливом, що зумовлює здатність препарату добре проникати в різні тканини, синовіальну рідину, а також швидко всмоктуватися в системний кровотік при різних способах введення: при внутрішньом'язовому введенні Стах у глазі досягається через 10-20 хв, а при ректальному – через 30 хв.

Таким чином, отримані результати досліджень адекватно відображають функціональні особливості цих лікарських речовин на молекулярному і клітинному рівнях.

Для вивчення механізму впливу глюкозаміну гідрохлориду на спорідненість диклофенаку натрію з модельними ліпосомами як контроль було обрано ліпосоми з попередньо введеним ГА. Концентрацію ГА в ліпосомах вибирали, виходячи з природного рівня ГА в організмі, таким чином, щоб зміна заряду на ліпосомах (збільшення інтенсивності флуоресценції) перебувала в межах 10-20 %. Потім у ліпосоми вводили диклофенак натрію, концентрації якого зростали.

Спектри флуоресценції зонда при введенні диклофенаку натрію в розчин ліпосом, що містив попередньо введений ГА, представлено на рисунку 1. Аналіз інтенсивностей флуоресценції показує, що, на відміну від чистого диклофенаку натрію, для якого не можна було визначити концентрації, що відповідають I_{50} , додавання 60 мкл стандартного розчину диклофенаку натрію в систему (ЛЗ+ГА) призводило

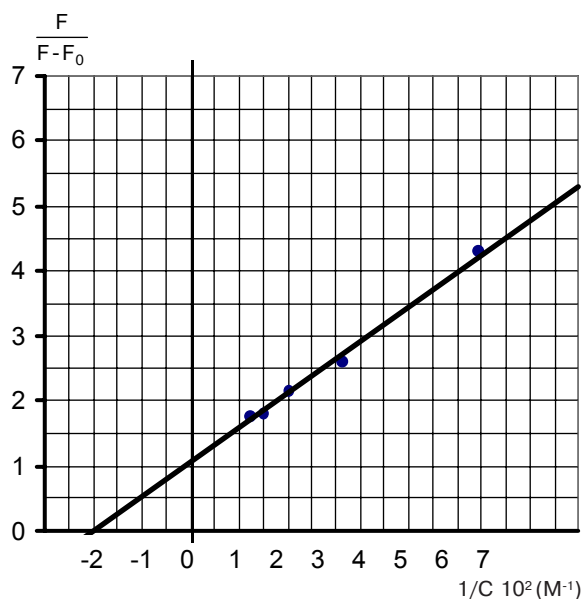


Рис. 2. Визначення константи дисоціації (K_d) глюкозаміну гідрохлориду з ліпосомами методом зворотних координат.

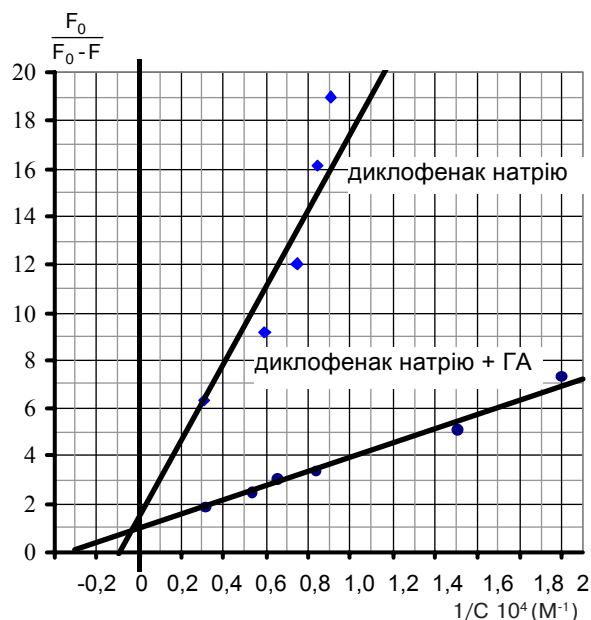


Рис. 3. Визначення константи дисоціації (K_d) диклофенаку натрію з ліпосомами та в присутності глюкозаміну гідрохлориду методом зворотних координат.

до зниження інтенсивності у 2 рази, а отже, підвищення спорідненості диклофенаку натрію з ліпосомами з ГА спостерігали безпосередньо за спектрами флуоресценції. Як видно з рисунку 3, пряма для диклофенаку натрію з ГА має значно менший кут нахилу (менше значення K_d), ніж для чистого диклофенаку натрію, а при розрахунку графічним методом було отримано значення K_d (Д+ГА) = $3,3 \cdot 10^{-4}$ M. Підвищення спорідненості диклофенаку натрію з модельними мембранами у присутності глюкозаміну гідрохлориду в 3 рази свідчить про збільшення позитивного заряду на мембрані

при наявності ГА. Очевидно, аміногрупа ГА блокує фосфатну групу фосфатидилхоліну, а негативний заряд на карбоксильній групі диклофенаку натрію за іон-іонним механізмом взаємодіє з позитивно зарядженою холіновою групою мембран ліпосом.

Отримані експериментальні дані підтверджують потенціювальний вплив аміноцукру ГА на фармакологічні характеристики диклофенаку натрію, що досягається шляхом зміни заряду на мембранах клітин, що й зумовлює можливу дію на спорідненість заряджених лікарських речовин з мембранами. Використання протилежно заряджених речовин, як у разі спільного введення досліджуваних об'єктів, спричиняє зміну параметрів фармакокінетики, що і є одним із можливих інструментів керування процесом всмоктування лікарських речовин. Вивчення мембранотропних властивостей композиції диклофенаку натрію з глю-

козаміну гідрохлоридом методом флуоресцентних зондів показало також досить високу її спорідненість з ліпідами біомембран, що припускає високу біодоступність даного препарату.

ВИСНОВКИ. 1. У результаті проведених досліджень встановлено більш високу спорідненість диклофенаку натрію з фосfolіпідами біомембран порівняно з глюкозаміну гідрохлоридом, що підтверджується показниками розрахованих констант дисоціації ($K_d(D)=10^{-3} M$; $K_d(ГА)=5 \cdot 10^{-3} M$).

2. Аналіз спектрів флуоресценції комбінації глюкозаміну гідрохлориду та диклофенаку натрію свідчить про підвищення мембранотропних властивостей даного НПЗП в 3 рази в присутності аміноцукру ($K_d(D+ГА)=3,3 \cdot 10^{-4} M$).

3. Одержані результати дозволяють припустити високу біодоступність лікарської форми на основі досліджуваної композиції.

ЛІТЕРАТУРА

1. Биологические мембраны. Методы: Пер. с англ. / Под ред. Дж.Б. Финдлея, У.Г. Эванза. – М.: Мир, 1990. – 424 с.
2. Владимиров Ю.А., Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. – М.: Наука, 1980. – 320 с.
3. Зупанец І.А. Експериментальне обґрунтування використання глюкозаміна і його производних в медицині: Дис. ... д-ра мед. наук. – Купавна, 1993. – 90 с.
4. Зупанец І.А., Попов С.Б., Отрішко І.А. Експериментальне вивчення протизапальної активності композиції глюкозаміну гідрохлориду та диклофенаку натрію на моделі карагенінового набряку // Клін. фармація. – 2002. – 6, № 2. – С. 48-50.
5. Зупанец І.А., Туляков В.О., Осадченко С.М. Особливості механізму дії глюкозаміну на хрящ суглобів // Клін. фармація. – 2001. – 5, № 1. – С. 14-17.
6. Иванов Л.В., Пиминов А.Ф., Зеленін Ю.В. Изучение механизмов влияния поверхностно-активных веществ на биодоступность и фармакологическую активность мягких лекарственных средств // Вісник фармації. – 2002. – № 2 (30). – С. 146-148.
7. Клинические испытания лекарств / Под ред. В.И. Мальцева, Т.К. Ефимцевой, Ю.Б. Белоусова, В.Н. Коваленко. – К.: МОРИОН, 2002. – С. 162-183.
8. Пат. України 56750 А, МПК 7 А 61 К 9/00, А 61 К 31/00. Фармацевтична композиція з протизапальною, анальгетичною та хондропротекторною дією / І.А. Зупанець, В.П. Черних, П.Д. Пашнєв, С.Б. Попов, В.М. Коваленко, А.А. Січкарь, І.А. Отрішко; Заявл. 30.08.2002; Опубл. 15.05.2003; Бюл. № 5. – 14 с.
9. Aminosugars: The chemistry and biology of compounds, containing aminosugars / Ed. T.A. Balazs, R.W. Jeanloz. – New York – London: Acad. Press,

1965. – P. 1 60-203.

10. Bismuto E., Sirangelo I., Irace G. Fluorescence lifetime distribution of 1,8-anilino-naphthalenesulfonate (ANS) in reversed micelles detected by frequency domain fluorometry // Biophys. Chem. – 1992. – 44, № 2. – P. 83-90.

11. Dietrich C., Merkel R., Tampe R. Diffusion measurement of fluorescence-labeled amphiphilic molecules with a standard fluorescence microscope // Biophys. J. – 1997. – 72. – P. 1701-1710.

12. Gabellieri E., Strambini G. Perturbation of protein tertiary structure in frozen solutions revealed by 1-anilino-8-naphthalene sulfonate fluorescence // Biophys. J. – 2003. – 85. – P. 3214-3220.

13. Kirk W., Kurian E., Prendergast F. Characterization of the sources of protein-ligand affinity: 1-sulfonato-8-(1')anilino-naphthalene binding to intestinal fatty acid binding protein // Biophys. J. – 1996. – 70. – P. 69-83.

14. Lee P.S., Song I.S., Shin T.H. et al. Kinetic analysis about the bidirectional transport of 1-anilino-8-naphthalene sulfonate (ANS) by isolated rat hepatocytes // Arch. Pharm. Res. – 2003. – 26. – P. 338-343.

15. Matulis D., Lovrien R. 1-anilino-8-naphthalene sulfonate anion-protein binding depends primarily on ion pair formation // Biophys. J. – 1998. – 74. – P. 422-429.

16. Najk A., Kalia Y.N., Guy R. Transdermal drug delivery: overcoming the skins barrier function // Pharmaceutical science and technology today. – 2000. – 3, № 9. – P. 318-326.

17. Palo K., Brand L., Eggeling C. et al. Fluorescence intensity and lifetime distribution analysis: toward higher accuracy in fluorescence fluctuation spectroscopy // Biophys. J. – 2002. – 83. – P. 605-618.

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ПОТЕНЦИРОВАНИЯ ДИКЛОФЕНАКА НАТРИЯ АМИНОСАХАРОМ ГЛЮКОЗАМИНОМ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ЗОНДОВ

И.А. Зупанец, С.Б. Попов, С.К. Шебеко, И.А. Отришко
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Приведены результаты изучения механизмов потенцирования диклофенака натрия аminosахаром глюкозамина гидрохлоридом на модельных мембранах клеток – липосомах методом флуоресцентного анализа с использованием зонда – 1-анилинонафталин-8-сульфоната (1,8-АНС).

При изучении спектров флуоресценции зонда в присутствии возрастающих концентраций глюкозамина отмечено незначительное повышение флуоресценции, которое объясняется образованием на поверхности липосом положительного заряда и увеличением сродства с ними отрицательно заряженного 1,8-АНС. При наличии диклофенака натрия наблюдалось незначительное снижение флуоресценции, свидетельствующее об адсорбции препарата на поверхности липосом. Рассчитанные константы диссоциации показали большее сродство диклофенака натрия с фосфолипидами модельных мембран клеток, чем глюкозамина ($K_d(D)=10^{-3}$ М; $K_d(GA)=5 \cdot 10^{-3}$ М).

Введение диклофенака натрия в раствор липосом с предварительно введенным глюкозамином приводило к существенному снижению флуоресценции, а следовательно, и к повышению сродства диклофенака натрия с модельными мембранами. При этом его константа диссоциации была в 3 раза меньше, чем на предварительном этапе исследования, – $K_d(D+GA) = 3,3 \cdot 10^{-4}$ М.

Изучение мембранотропных свойств данной комбинации методом флуоресцентных зондов показало достаточно высокое ее сродство с фосфолипидами биомембран, что и обуславливает эффект потенцирования и большую биодоступность диклофенака натрия в присутствии глюкозамина гидрохлорида.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: диклофенак натрия, глюкозамина гидрохлорид, флуоресцентные зонды, липосомы, механизм потенцирования.

STUDYING OF POTENTIATION MECHANISM OF DICLOFENAC SODIUM BY AMINOSUGAR GLUCOSAMINE WITH FLUORESCENT PROBES METHOD

I.A. Zupanets, S.B. Popov, S.K. Shebeko, I.A. Otrishko
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

Summary

There have been given the results of the potentiation mechanism studying of diclofenac sodium by amino-sugar glucosamine on modelling cell membranes – liposomes by means of fluorescent analysis method with the use of probe – 1-anilino-naphthalene-8-sulfonate (1,8-ANS).

During the probe fluorescence spectrums studying at the presence of growing glucosamine concentrations it was marked a slight increase of fluorescence, which can be explained by formation of a positive charge on the surface of liposomes and rising the negative 1,8-ANS affinity with them. In the presence of diclofenac sodium it was noted a slight fluorescence decreasing, which testifies to the drug adsorption on a surface of liposomes. The calculated dissociation constants showed the greater affinity between diclofenac sodium and phospholipids of modelling cell membranes, than between glucosamine ($C_d(D)=10^{-3}$ M; $C_d(GA)=5 \cdot 10^{-3}$ M).

Diclofenac insertion into solution of liposomes, which have been already injected by glucosamine, resulted in the significant fluorescence decreasing and hence in the rising affinity between diclofenac sodium and modelling membranes. Its dissociation constant was 3 times smaller than at the previous stage of the studying – $C_d(D+GA)=3,3 \cdot 10^{-4}$ M.

Studying the membranotropic properties of the given composition by means of fluorescent probes method has shown its high affinity with the phospholipids of biomembranes, which determines a potentiation effect and higher bioavailability of diclofenac sodium in the presence of glucosamine hydrochloridum.

KEY WORDS: diclofenac sodium, glucosamine hydrochloridum, fluorescent probes, liposomes, potentiation mechanism.

Отримано 05.04.2004 р.

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

ЗМІНИ КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНИХ ПОКАЗНИКІВ У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ З ГЕМОРАГІЧНИМИ УСКЛАДНЕННЯМИ І СУПРОВІДНИМ УРАЖЕННЯМ ГЕПАТОБІЛІАРНОЇ СИСТЕМИ

Л.А. Гришук

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Досліджено динаміку клініко-лабораторних показників у хворих на туберкульоз легень з геморагічними ускладненнями та супровідною патологією гепатобіліарної системи. Пацієнтів було поділено на три групи залежно від типу туберкульозного процесу – вперше діагностовані, з рецидивами, хронічно хворі. Результати досліджень показали, що супровідні захворювання гепатобіліарної системи зустрічаються у 12,65 % хворих та негативно впливають на ефективність комплексної терапії.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: туберкульоз легень, легеневі кровотечі та кровохаркання, захворювання гепатобіліарної системи, ефективність лікування.

ВСТУП. Проблема туберкульозу як поширеного і небезпечного захворювання продовжує залишатися актуальною в даний час. В Україні ситуація, пов'язана з поширенням туберкульозу, почала погіршуватися з 1990 р., а з 1995 р. зареєстровано прогресуючу епідемію захворювання. Так, з 1990 до 2002 р. захворюваність на цю недугу збільшилась у 2,36 раза (з 32,0 до 75,6 на 100 тис. населення), смертність зросла в 2,52 раза (з 8,1 до 20,4 на 100 тис. населення) [9-11].

Важливою проблемою залишається перебіг туберкульозу із супровідними захворюваннями та ускладненнями. Одними з таких ускладнень є легеневі кровотечі та кровохаркання. Вони потребують невідкладної допомоги, до того ж, їх виникнення, тривалість і наслідки часто неможливо передбачити [7, 12, 15].

Виникнення туберкульозу у хворих з патологією печінки чи ураження печінки у хворих на туберкульоз погіршують перебіг захворювань і значно знижують ефективність лікування [1-5].

При терапії хворих на туберкульоз важливо враховувати те, що печінка виконує дуже важливі функції, зокрема бере участь в обміні білків, вуглеводів, ліпідів, ферментів, вітамінів, водному, мінеральному та пігментному обміні, секреції жовчі, дезінтоксикації організму. Крім цього, печінка є місцем, де синтезуються протромбін, фібриноген, антигемофільний фактор. При захворюваннях печінки порушується всмоктування в кишечнику вітамінів, © Л.А. Гришук – к.мед.н., 2004.

зокрема вітаміну К [16], який відіграє важливу роль у синтезі факторів протромбінового комплексу. Отже, система згортання крові значною мірою залежить від білковосинтетичної функції печінки і патологічних змін гепатоцитів [6].

Ураження печінки у хворих на туберкульоз легень зумовлене різними чинниками і патогенетичними механізмами. Специфічні ураження спричиняються гематогенною дисемінацією збудника і мають переважно міліарний, гранулематозний характер або форму окремих вогнищ чи фокусів казеозного некрозу [8, 13].

Токсична дія протитуберкульозних препаратів на печінку часто призводить до медикаментозних гепатитів, дистрофічних процесів в органі, загострення хронічних захворювань – з одного боку, а з іншого – негативно впливає на ефективність використання антимікобактерійних препаратів, сприяючи виникненню геморагічних та інших ускладнень. Медикаментозний гепатит може проявлятися болем у правому підребер'ї, збільшенням печінки, іктеричністю слизових оболонок, шкіри. Інколи наявні лише симптоми сенсibiliзації організму (висипання, свербіння, артралгії, еозинофілія в крові). Помірно підвищується активність АлАТ, АсАТ [16]. Найчастіше розвиток медикаментозних уражень печінки пов'язують із застосуванням ізоніазиду, рифампіцину, етіонаміду, піразинаміду. При лікуванні цими препаратами може виникати гострий гепатоцелюлярний некроз у 20 % хворих. Медикаментозні гепатити переважно розвиваються протягом перших 3 місяців лікування [14].

Ризик ураження печінки зростає при одночасному використанні ізоніазиду і рифампіцину, оскільки останній є сильнодіючим ферменторедуруючим препаратом. Токсичні гепатити, спричинені ізоніазидом і рифампіцином, частіше виникають у носіїв вірусу гепатиту В. Під час лікування антибактерійними препаратами необхідно стежити за функцією печінки, насамперед при призначенні ізоніазиду пацієнтам старшого віку із хронічним алкоголізмом, супровідними захворюваннями печінки, а також при парентеральному введенні препарату [8, 17].

У зв'язку з тим, що печінка бере участь в різних видах обміну речовин, запропоновано багато проб для визначення її функціонального стану. Однак багато авторів схиляється до думки, що в клініці туберкульозу достатньо дослідити тільки основні показники, такі, як білірубін, трансамінази, лужна фосфатаза та тимолова проба [6].

Слід відмітити, що в літературі недостатньо висвітлено питання стосовно функціонального стану гепатобіліарної системи у хворих на туберкульоз легень, ускладнений легеневи́ми геморагіями. Тому метою нашої роботи було проаналізувати зміни клініко-лабораторних показників у хворих на туберкульоз легень з геморагічними ускладненнями та супровідними захворюваннями гепатобіліарної системи.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 664 хворих на туберкульоз легень з геморагічними ускладненнями, які лікувались у Тернопільському обласному протитуберкульозному диспансері. Пацієнтів було поділено на три групи залежно від типу туберкульозного процесу: 1-й тип – вперше діагностований туберкульоз легень (243, або 36,60 %, осіб), 2-й – хворі з рецидивами туберкульозу легень

(76, або 11,44 %), 3-й – хронічно хворі на туберкульоз легень (345, або 51,96 %).

Супровідні захворювання гепатобіліарної системи, які потребували медикаментозної корекції, було констатовано у 84 осіб (12,65 %) віком від 16 до 82 років.

Частоту захворювань залежно від типу туберкульозного процесу представлено у таблиці 1.

Як бачимо з таблиці 1, найбільший відсоток супровідних захворювань гепатобіліарної системи зустрічався серед хронічно хворих на туберкульоз легень ($p > 0,05$).

Розподіл хворих із супровідною патологією (84) за статтю представлено у таблиці 2.

Серед хворих на туберкульоз легень з геморагічними ускладненнями при 1-му і 3-му типах туберкульозного процесу відсоток жінок і чоловіків був майже однаковим, тоді як при рецидивах переважали жінки.

Наявність деструктивних змін у легене́вій тканині та бактеріовиділення представлено у таблиці 3.

Загалом порожнини розпаду констатовано у 65,47 %, бактеріовиділення – у 55,95 % хворих на туберкульоз легень у поєднанні з гепатобіліарною патологією.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Скарги на біль у правому підребер'ї констатовано у 8 хворих 1-го типу, 3 – 2-го та 24 – 3-го, загалом у 41,67 %. Збільшення розмірів печінки відмічено у 46,43 %, жовтяничний синдром – у 5,95 % осіб.

Супровідна патологія гепатобіліарної системи у хворих на туберкульоз легень з геморагічними ускладненнями частіше спостерігалась серед хворих на фіброзно-кавернозний, інфільтративний та дисемінований туберкульоз легень (відповідно, у 35,71, 27,39 та 17,86 %),

Таблиця 1 – Частота захворювань гепатобіліарної системи у хворих на туберкульоз легень з геморагічними ускладненнями

Тип туберкульозного процесу	Загальна кількість хворих	Хворі із супровідною патологією гепатобіліарної системи	
		Абс.	%
Вперше діагностований	243	23	9,46
Рецидиви	76	8	10,53
Хронічний	345	53	15,36
Разом	664	84	12,65

Таблиця 2 – Розподіл хворих із супровідною патологією за типом туберкульозного процесу та статтю

Тип туберкульозного процесу	Стать				Загальна група (n=84)	
	Чоловіки (n=68)		Жінки (n=16)		Абс.	%
	Абс.	%	Абс.	%		
Вперше діагностований	19	27,34	4	25,00	23	27,38
Рецидиви	5	7,35	3	18,75	8	9,53
Хронічний	44	64,71	9	56,25	53	63,09

значно рідше – при циротичному (11,90 %) та вогнищевому (4,76 %).

Розподіл хворих за клінічними формами супровідних захворювань гепатобіліарної системи представлено у таблиці 4.

У цілому серед пацієнтів переважав хронічний гепатит (48,81 %), але у вперше діагностованих та хронічно хворих досить часто спостерігався токсичний гепатит, який, на нашу думку, був зумовлений токсичною дією протитуберкульозних препаратів.

Проаналізовано біохімічні показники у хворих із супровідною патологією при госпіталізації, під час загострення недуги в процесі стаціонарного лікування, а також на момент виписування з стаціонару, після комплексного лікування. Отримані дані представлено у таблиці 5.

При госпіталізації в стаціонар відмічено деяке підвищення показників, що спостерігалось переважно в пацієнтів, у яких захворювання гепатобіліарної системи було діагностовано раніше, ніж вони захворіли на туберкульоз. Під час лікування, зокрема в перші три місяці, мали місце токсичні реакції на протитуберкульозні препарати, здебільшого серед вперше виявлених хворих. При незначних клінічних проявах токсичного впливу на 1-2 тижні відміняли протитуберкульозні препарати. У більш складних випадках призначали інтенсивну дезінтоксикаційну та гепатопротекторну терапію, ентеросорбенти. Серед гепатопротекторів використовували силібор, карсил, тіотриазолін, есенціале, ліволін. При виписуванні із стаціонару в більшості хворих (73,12 %) відмічали нормалізацію біохімічних показників.

Окремо обстежено 60 хворих на туберкульоз легень з рецидивними легеневиими крово-

течами та кровохарканнями, без супровідної патології печінки, яким з метою запобігання токсичному впливу протитуберкульозних препаратів додатково призначались гепатопротектори. Хворих було поділено на дві групи, аналогічні за статтю, віком та клінічним діагнозом туберкульозу. Пацієнти 1-ї групи додатково отримували 2 місяці силібор і 1 місяць карсил, 2-ї – відповідно, тіотриазолін та ліволін. Порівнювали результати при госпіталізації та через три місяці комплексного лікування. З'ясувалося, що через три місяці у 1-й групі геморагії продовжували спостерігатись у 19 (63,33 %) пацієнтів, а у 2-й – тільки у 13 (43,33 %), тобто відмічалась тенденція до зменшення кількості рецидивів геморагій ($p > 0,05$). Це свідчить про те, що використання тіотриазоліну та ліволіну в комплексному лікуванні хворих на туберкульоз легень з рецидивними геморагічними ускладненнями знижує їх кількість.

Враховуючи те, що система згортання крові значною мірою залежить від білковосинтетичної функції печінки і патологічних змін гепатоцитів, було досліджено зміни деяких біохімічних показників у хворих на туберкульоз легень з геморагічними ускладненнями з метою пошуку залежності геморагій від цих показників і можливості прогнозування ймовірності рецидивів легеневиих кровохаркань чи кровотеч.

Проведено аналіз стаціонарного лікування 64 хворих на туберкульоз легень. Їх було поділено на дві групи, аналогічні за статтю, віком, клінічним діагнозом туберкульозу легень, без супровідних захворювань: 1-ша – контрольна (32), без геморагічних ускладнень, 2-га – пацієнти (32) з геморагічними ускладненнями. Усім хворим проводили біохімічні

Таблиця 3 – **Наявність деструктивних змін у легеневій тканині та бактеріовиділення у хворих на туберкульоз легень із супровідною патологією**

Тип туберкульозного процесу	Заг. кількість хворих	Наявність деструкції в легенях		Виявлені мікобактерії туберкульозу	
		Абс.	% від загальної кількості	Абс.	% від загальної кількості
Вперше діагностований	23	15	65,21	12	52,17
Рецидиви	8	4	50,00	3	37,50
Хронічний	53	36	67,92	32	60,38
Разом	84	55	65,47	47	55,95

Таблиця 4 – **Розподіл хворих за клінічними формами супровідних захворювань гепатобіліарної системи**

Клінічні форми супровідних захворювань	Хворі на туберкульоз легень				
	Вперше виявлені (n=23)	Рецидиви (n=8)	Хронічно хворі (n=53)	Разом	% від заг. кількості
Вірусний гепатит	1	–	–	1	1,19
Токсичний гепатит	13	1	11	25	29,76
Хронічний гепатит	6	6	29	41	48,81
Гепатохолецистит	2	1	7	7	11,91
Цироз печінки	1	–	6	6	8,33

Таблиця 5 – Біохімічні показники у хворих на туберкульоз легень з геморагічними ускладненнями та супровідною патологією

Показник	При госпіталізації	У період лікування (загострення)	При виписуванні із стаціонару
Білірубін (загальний), мкмоль/л	22,47±1,63	50,49±8,20*	20,13±2,90**
Білірубін (прямий), мкмоль/л	10,97±0,95	27,74±6,69*	10,56±1,86**
Білірубін (непрямий), мкмоль/л	11,54±0,80	23,89±3,28*	10,45±1,54**
АсАТ, ммоль/(год·л)	0,60±0,04	1,32±0,35*	0,62±0,09**
АлАТ, ммоль/(год·л)	0,78±0,07	1,53±0,39	0,79±0,12**

Примітка: * – (p<0,05) – достовірна відмінність між значеннями показників до госпіталізації та в період лікування; ** – (p<0,05) – достовірна відмінність між значеннями показників у період лікування та при виписуванні із стаціонару.

Таблиця 6 – Біохімічні показники хворих на туберкульоз легень

Показник	Одиниця виміру	1-ша група (n=32)	2-га група (n=32)	p
Цукор	ммоль/л	4,38±0,18	5,06±0,26	>0,05
Сечовина	мкмоль/л	5,19±0,42	5,49±0,25	>0,05
Креатинін	мкмоль/л	79,14±3,38	81,70±2,19	>0,05
Заг. білок	г/л	75,06±0,92	75,13±1,02	>0,05
Білірубін	мкмоль/л	15,41±1,69	16,49±0,57	>0,05
АсАТ	ммоль/(год·л)	0,39±0,02	0,43±0,03	>0,05
АлАТ	ммоль/(год·л)	0,53±0,01	0,59±0,02	>0,05
Проба тимолова	од.	3,48±0,02	4,57±0,02	<0,05
Проба сулемова	мл сулеми	1,81±0,04	1,86±0,09	>0,05
Холестерин	ммоль/л	5,09±0,03	5,14±0,17	>0,05
Кальцій крові	ммоль/л	2,01±0,13	2,18±0,07	>0,05
Лужна фосфатаза	нмоль/(с·л)	1352,25±198,75	1388,19±114,70	>0,05

дослідження крові, зокрема визначали загальний білок, холестерин, білірубін, трансамінази, сечовину, креатинін, кальцій крові, лужну фосфатазу, цукор, тимолову і сулемову проби (результати представлено у таблиці 6).

Встановлено, що в обох групах рівень загального білка майже не відрізнявся. Тоді як середні арифметичні показники білірубину, трансаміназ, цукру, холестерину, сечовини, креатиніну, кальцію крові, лужної фосфатази та сулемової проби мали тенденцію до збільшення у хворих з геморагічними ускладненнями порівняно з контрольною групою (p>0,05). Достовірне підвищення показників тимолової проби відмічено у хворих з легеневиими кровотечами і кровохарканнями, воно становило, порівняно з контрольною групою, (3,48±0,12) та (4,57±0,02) од. (p<0,05).

Таким чином, серед біохімічних показників у хворих на туберкульоз легень, ускладнений легеневиими геморагіями, найбільшої уваги

заслужує тимолова проба, яка може бути і прогностичною ознакою рецидивних геморагій.

ВИСНОВКИ. 1. Супровідні захворювання гепатобіліарної системи у хворих на туберкульоз легень з геморагічними ускладненнями складають 12,65 % і спостерігаються передусім у хронічно хворих з розповсюдженими деструктивними ураженнями легень та масивним бактеріовиділенням.

2. Застосування на фоні комплексної протитуберкульозної терапії гепатопротекторів, особливо тіотриазоліну та леволіну, покращує стан гепатобіліарної системи та зменшує ймовірність виникнення у хворих рецидивних кровохаркань.

3. Підвищення рівня деяких біохімічних показників, особливо тимолової проби, може бути прогностичною ознакою ймовірності виникнення геморагічних ускладнень у хворих на туберкульоз легень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гречін С.О. Лікування хворих на туберкульоз легень з ураженням печінки // Лік. справа. – 1996. – № 3-4. – С. 127-130.
2. Гришук Л.А. Частота і структура порушень гепатобіліарної системи у хворих на туберкульоз легень // Інфекційні хвороби. – 2002. – № 4. – С. 55-57.

3. Мельник В.М., Велецький Ю.М. Причини неефективного лікування хворих на вперше діагностований деструктивний туберкульоз легень // Лік. справа. – 1999. – № 4. – С. 124-128.
4. Митинская Л.А., Юхименко Н.В., Элфимова В.Ф., Эргешов А.Э. Состояние печени у детей,

перенесших внутригрудной туберкулёз, в отдаленные сроки наблюдения после окончания химиотерапии // Пробл. туберкулёза. – 1997. – № 6. – С. 23-27.

5. Новожилова Н.О. Эффективность лечения больных на деструктивный туберкулез легень при ураженні печінки // Лік. справа. – 1998. – № 7. – С. 121-123.

6. Подымова С.Д. Болезни печени. – 3-е изд. – М.: Медицина, 1998. – 704 с.

7. Ржавсков Ю.В. Легочные кровотечения у больных туберкулёзом (лекция) // Пробл. туберкулёза. – 1999. – № 1. – С. 65-69.

8. Туберкулёз / Под ред. А.Г. Хоменко. – М.: Медицина, 1996. – 496 с.

9. Фещенко Ю.И. Ситуация с туберкулезом на Украине // Doctor. – 2002. – № 4. – С 11-14.

10. Фещенко Ю.И., Мельник В.М. Сучасні методи діагностики, лікування та профілактики туберкулозу. – К.: Здоров'я, 2002. – 904 с.

11. Фещенко Ю.И., Мельник В.М., Матусевич В.Г., Антоненко Л.Ф. Епідеміологія туберкулозу

у світі, сучасні підходи до організації протитуберкульозних заходів // Укр. пульмонол. журн. – 2003. – № 4. – С. 5-10.

12. Худзик Л.Б. Легочные кровотечения и неотложная помощь // Пробл. туберкулёза. – 1997. – № 5. – С. 48-51.

13. Alvarez S.Z. Hepatobiliary tuberculosis // J. Gastroenterol. Hepatol. – 1998. – **13**, № 8. – P. 833-839.

14. Harada H., Murai S., Kojima H. et al. Diagnosis and treatment of pulmonary tuberculosis complicated with chronic liver disease // Nippon Rinho. – 1998. – **56**, № 12. – P. 3212-3216.

15. Levis M.M., Read C.A. Hemoptysis, part I: Identifying the cause // J. Respir. Dis. – 2000. – **21**, № 5. – P. 335-341.

16. Vermeer C., Guysberg B.L., Craciun A.M. et al. Effect of vitamin K on bone mass and metabolism // J. Nutr. – 1996. – **126**, № 4. – P. 1187-1191.

17. Xing T., Chen G., Zhang G. Clinical and pathological analysis of liver injury resulting from rifampin and isoniazid // Chung Hua Ho Ho Hsi Tsa Chih. – 1997. – **20**, № 1. – P. 33-35.

ИЗМЕНЕНИЯ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ С ГЕМОРРАГИЧЕСКИМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ И СОПУТСТВУЮЩИМ ПОРАЖЕНИЕМ ГЕПАТОБИЛИАРНОЙ СИСТЕМЫ

Л.А. Гришук

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Исследовано динамику клинико-лабораторных показателей у больных туберкулезом легких с геморрагическими осложнениями и сопутствующей патологией гепатобилиарной системы. Пациенты были разделены на три группы в зависимости от типа туберкулезного процесса – впервые диагностированные, с рецидивами, хронически больные. Результаты исследований показали, что сопутствующие заболевания гепатобилиарной системы наблюдаются у 12,65 % больных и негативно влияют на эффективность комплексной терапии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: туберкулез легких, легочные кровотечения и кровохаркание, заболевания гепатобилиарной системы, эффективность лечения.

CHANGES OF CLINICAL AND LABORATORY INDICES IN PULMONARY TUBERCULOSIS PATIENTS WITH HEMORRHAGIC COMPLICATIONS AND ACCOMPANIED LESIONS OF HEPATOBILIARY SYSTEM

L.A. Hryshchuk

TERNOPIIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The investigations of clinical and laboratory indices pulmonary tuberculosis in patients with lung hemorrhagic complications and accompanied lesions of hepatobiliary system were carried out. The patients were divided into three groups depending on tuberculosis process type – first diagnosed, with relapses, chronically ill. Accompanied diseases of hepatobiliary system were observed in 12,65 % patients, and they negatively influence on the efficacy of complex treatment of patients with pulmonary tuberculosis.

KEY WORDS: pulmonary tuberculosis, lung hemorrhages and hemoptysis, diseases of hepatobiliary system, efficacy of treatment.

Отримано 16.04.2004 р.

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

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ, ІНДОМЕТАЦИНУ ТА ДИКЛОФЕНАКУ НАТРІЮ НА ПРОСТАГЛАНДИНОВУ РЕАКЦІЮ ОКА І ВМІСТ ЕЙКОЗАНОЇДІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ

І.А. Зупанець, Н.В. Бездітко

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Проведено порівняльне вивчення впливу глюкозаміну гідрохлориду, індометацину і диклофенаку натрію на простагландинову реакцію ока при моделюванні хірургічного оперативного втручання на передньому відрізку очного яблука у кролів та вміст ейкозаноїдів у сироватці крові інтактних експериментальних тварин при моделюванні асептичного запалення. Показано, що глюкозаміну гідрохлорид, на відміну від індометацину і диклофенаку натрію, не діє на простагландинову реакцію ока, не змінює ступінь вираження післяопераційного міозу в кролів. Динаміка ейкозаноїдів у сироватці крові інтактних тварин і на тлі розвитку асептичного запалення при введенні глюкозаміну індометацину має істотні розбіжності. Отримані результати свідчать про те, що глюкозаміну гідрохлорид має інший, ніж у стандартних нестероїдних протизапальних засобів, механізм протизапальної дії, не пов'язаний із впливом на ЦОГ-залежний синтез простагландинів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: запалення, захворювання ока, лікування, глюкозамін.

ВСТУП. У структурі офтальмологічної патології деструктивно-запальні захворювання ока займають провідне місце, складаючи близько 30 % всіх очних хвороб. Основу комплексного медикаментозного лікування даного контингенту хворих становлять нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ). Асортимент НПЗЗ для офтальмології в даний час вкрай обмежений [9, 13, 14], що визначає актуальність проблеми створення вітчизняних препаратів цієї групи. Нами протягом ряду років проводяться дослідження, присвячені створенню протизапальних препаратів на основі аміноцукру глюкозаміну і його похідних [2, 3]. На різних моделях експериментальної патології ока показано, що 20 % розчин глюкозаміну гідрохлориду (ГА) має протизапальну дію, порівнювану з дією стандартних НПЗЗ – індометацину і диклофенаку натрію [1, 3]. Головним компонентом механізму дії стандартних НПЗЗ є блокада циклооксигенази (ЦОГ₁ і ЦОГ₂) – ключових ферментів, що беруть безпосередню участь у синтезі простагландинів. Вплив на ЦОГ визначає як позитивні, так і більшість негативних фармакологічних ефектів НПЗЗ [12, 13, 21].

Мета даного дослідження – порівняльне вивчення впливу глюкозаміну гідрохлориду,

© І.А. Зупанець – д.мед.н., проф., Н.В. Бездітко – к.мед.н., 2004.

індометацину і диклофенаку натрію на простагландинову реакцію ока і вміст ейкозаноїдів у сироватці крові для уточнення можливих механізмів протизапальної дії глюкозаміну гідрохлориду як потенційного лікарського засобу, призначеного для лікування деструктивно-запальних захворювань ока.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Порівняльне вивчення впливу 20 % розчину ГА, індометацину (очні краплі "Індоколір") і диклофенаку натрію (очні краплі "Наклоф") на ступінь вираження міозу, викликаного хірургічним втручанням, проведено на 16 кролях (32 ока). Тваринам під місцевою анестезією ножом Graefe в ділянці лімба робили лінійний розріз довжиною 5 мм, потім ніж вводили в передню камеру ока і робили рухи, що імітують маніпуляції відповідно до стандартної хірургічної операції з приводу екстракції катаракти. Як мідріатик за 30 і 15 хв до розрізу інстилювали 1 % розчин тропікамідю. Досліджувані препарати інстилювали по 1 краплі 4 рази протягом 1 год до хірургічного втручання. У контрольній групі за тією ж схемою інстилювали фізіологічний розчин. Діаметр зіниці вимірювали по горизонтальній осі (3-9 год) за допомогою кератометра безпосередньо перед хірургічним втручанням і після його завершення.

Вивчення впливу субстанцій ГА та індометацину на вміст ейкозаноїдів у сироватці крові проведено на моделі карагенінового запалення. Експерименти виконано на білих щурах масою 180-200 г. ГА і відомий інгібітор синтезу простагландинів – індометацин вводили в дозі 50 і 10 мг/кг відповідно за 1 год до індукції запалення. У контрольній групі тваринам вводили фізіологічний розчин. Вміст ейкозаноїдів визначали за допомогою наборів для радіоізотопних досліджень фірми "Dode" (США) й Інституту ізотопів (Угорщина).

Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням критеріїв Фішера-Стьюдента за допомогою комп'ютерних статистичних програм [5].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. На сьогодні в офтальмології загальноновизнаним є факт, що пункція передньої камери ока і подразнення очних структур при маніпуляціях у передній камері під час оперативних втручань призводить до значного збільшення вмісту в ній простагландинів. Негайними реакціями з боку ока на збільшення рівня простагландинів є виражений міоз, ін'єкція судин райдужки, збільшення вмісту білка в передній камері та як наслідок цього трохи пізніше – підвищення внутрішньоочного тиску [6, 13, 17]. Вираження простагландинового міозу – один із критеріїв ефективності НПЗЗ при оперативних втручаннях на передньому відрізьку ока [7, 10, 16].

Результати дослідження впливу ГА, індометацину і диклофенаку натрію на ступінь вираження післяопераційного міозу в кролів представлено в таблиці 1.

Перед початком хірургічних маніпуляцій діаметр зіниці кролів коливався в межах від 5 до 9 мм. Статистично значущих розбіжностей в обстежуваних групах тварин не було виявлено. Після хірургічних маніпуляцій у кожній групі мало місце достовірне, порівняно з вихідними даними, зменшення діаметра зіниці. У контрольній групі діаметр зіниці зменшився в середньому на 55 %. На тлі передопераційних інстиляцій індометацину і диклофенаку натрію зменшення діаметра зіниці було достовірно менш вираженим, ніж у контролі, й склало, відповідно, 28 і 30 % від вихідного рівня. Отримані результати цілком відповідають літературним даним про здатність інгібіторів ЦОГ зменшувати ступінь вираження післяопераційного міозу [18, 19]. Разом з тим, на тлі інстиляцій ГА достовірного зменшення ступеня вираження міозу, порівняно з контролем, не відзначено. Отримані дані певною мірою свідчать про відсутність у ГА здатності впливати на ЦОГ-за-

лежне підвищення синтезу простагландинів у період травматичного ушкодження ока.

Результати вивчення впливу ГА та індометацину на рівень ейкозаноїдів у сироватці крові щурів представлено в таблиці 2. Введення індометацину інтактним тваринам призводило до значного зниження вмісту тромбоксану B_2 (TxB_2) і достовірного зменшення в сироватці крові рівня простагландину E_1 (PGE_1). При введенні інтактним тваринам ГА рівень PGE_1 мав тенденцію до підвищення. Зниження вмісту TxB_2 було значно (у 6,6 раза) менш вираженим, ніж при введенні індометацину. Зміни рівня простагландину (PGI_2), простагландинів $F_{1\alpha}$ і $F_{2\alpha}$ не зареєстровано.

При розвитку карагенінового запалення в контрольній групі через 1 год після введення флогогену в сироватці крові значно збільшувався вміст PGI_2 і знижувався вміст TxB_2 , що можна пояснити функціональним антагонізмом цих ейкозаноїдів. У цей період також мали місце достовірне зростання рівня PGE_1 і тенденція до підвищення рівня $PGF_{2\alpha}$. Через 3 год вміст PGI_2 і TxB_2 істотних змін не зазнав. Таким же, що і через 1 год після введення флогогену, залишався рівень PGE_1 . Вміст $PGF_{1\alpha}$ в цей час значно підвищувався, а $PGF_{2\alpha}$ – достовірно знижувався. Дана динаміка вмісту ейкозаноїдів у сироватці крові укладається в картину розвитку карагенінового набряку. На тлі індометацину через 1 год після введення флогогену в сироватці крові тварин з карагеніновим запаленням достовірно стосовно як контролю, так і інтакту знижувався вміст PGE_1 (відповідно в 1,7 і 3,9 раза), $PGF_{1\alpha}$ (у 3,4 і 3,1 раза) і $PGF_{2\alpha}$ (у 3,5 і 4,8 раза). На фоні ГА в цей період розвитку запалення рівень PGE_1 зберігався в межах, характерних для інтактних тварин, зниження вмісту $PGF_{1\alpha}$ було достовірно менш вираженим, ніж на тлі індометацину, а вміст $PGF_{2\alpha}$ достовірно підвищувався.

Через 3 год в групі щурів, які одержували індометацин, вміст PGE_1 і $PGF_{1\alpha}$ залишався достовірно нижчим, ніж у контролі, $PGF_{2\alpha}$ – меншим, ніж у інтактних тварин. У групі щурів, які отримували ГА, через 3 год після введення флогогену рівень простагландинів PGE_1 , $PGF_{1\alpha}$ і $PGF_{2\alpha}$ не мав достовірних відмінностей від інтакту.

Таким чином, отримані результати показали, що на тлі розвитку в експериментальних тварин карагенінового набряку індометацин протягом 1 год достовірно знижує рівень більшості ейкозаноїдів (TxB_2 , PGE_1 , $PGF_{1\alpha}$, $PGF_{2\alpha}$) стосовно як контролю, так і інтакту. Достовірно зменшення вмісту TxB_2 , PGE_1 має місце також при введенні індометацину інтактним щурам.

Таблиця 1 – Вплив глюкозаміну гідрохлориду, індометацину та диклофенаку натрію на ступінь вираження міозу після пункції передньої камери ока у кролів (n=32)

Група тварин	Діаметр зіниці, мм	
	До операції	Після операції
Контроль	7,75±0,36 – –	3,50±0,33 p<0,001 –
ГА	7,62±0,46 – p ₁ >0,05	3,87±0,29 p<0,001 p ₁ >0,05
Індометацин	7,50±0,60 – p ₁ >0,05	5,37±0,50 p<0,05 p ₁ <0,05
Диклофенак натрію	7,87±0,51 – p ₁ >0,05	5,25±0,56 p<0,05 p ₁ <0,05

Примітка. p – достовірність відмінностей порівняно з початковими даними (до операції);
p₁ – достовірність відмінностей порівняно з контрольною групою тварин.

Таблиця 2 – Вплив глюкозаміну гідрохлориду й індометацину на рівень ейкозаноїдів у сироватці крові щурів при карагеніновому запаленні (n=48)

Умови експерименту	Рівень ейкозаноїдів у сироватці крові				
	PGI ₂ , пг/мл	TxB ₂ , пг/мл	PGE ₁ , нм/л	PGF _{1α} , пг/мл	PGF _{2α} , пг/мл
Інтактні тварини	42,0±6,8	352,6±10,3	4,84±0,92	281,2±64,2	500,0±47,8
Інтактні тварини+індометацин	50,0±6,5 p>0,05	15,6±2,7 p<0,001	3,07±0,58 p=0,05	278,3±60,9 p>0,05	604,3±63,1 p>0,05
Інтактні тварини+ГА	38,6±5,3 p>0,05	103,0±6,1 p<0,02	7,72±1,13 p=0,05	198,7±74,7 p>0,05	461,3±61,6 p>0,05
1 год					
Контроль	100,0±6,4 p<0,001	31,1±6,5 p<0,001	9,87±1,54 p<0,05	254,6±21,2 p>0,05	690,0±37,6 p>0,05
Карагенін+індометацин	103,6±6,2 p<0,05 p ₁ >0,05	24,9±3,4 p<0,05 p ₁ >0,05	2,52±0,38 p<0,05 p ₁ <0,01	83,6±10,4 p<0,001 p ₁ <0,002	143,6±15,8 p<0,001 p ₁ <0,001
Карагенін+ГА	102,3±4,4 p<0,01 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05	30,6±6,8 p<0,001 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05	6,0±0,96 p>0,05 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	117,3±7,8 p<0,05 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	1093,6±50,6 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
3 год					
Контроль	101,0±10,6 p<0,001	37,5±0,6 p<0,001	10,32±1,53 p=0,02	447,5±22,0 p<0,05	253,0±36,6 p<0,002
Карагенін+індометацин	97,6±14,7 p<0,05 p ₁ >0,05	16,6±2,4 p<0,001 p ₁ <0,05	4,24±0,75 p>0,05 p ₁ <0,02	265,3±48,9 p>0,05 p ₁ <0,05	344,3±31,6 p<0,001 p ₁ >0,05
Карагенін+ГА	91,6±8,9 p<0,02 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05	124,0±9,9 p<0,002 p ₁ <0,01 p ₂ <0,01	4,41±0,59 p>0,05 p ₁ <0,05 p ₂ >0,05	169,0±21,9 p>0,05 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	475,0±15,4 p>0,05 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05

Примітка. p – достовірність відмінностей порівняно з інтактними тваринами;
p₁ – достовірність відмінностей порівняно з контрольною групою тварин;
p₂ – достовірність відмінностей порівняно з введенням індометацину.

На відміну від індометацину, ГА в інтактних тварин не впливає на рівень PGI₂, PGF_{1α} і PGF_{2α} і стимулює підвищення PGE₁. При розвитку запалення на тлі ГА вміст PGE₁ не зменшувався нижче фізіологічного рівня, зниження рівня PGF_{1α} було достовірно меншим, ніж на фоні

індометацину, а відносно вмісту PGI₂ і PGF_{2α} відзначено стимуляцію.

Відомо, що більшість НПЗЗ внаслідок інгібуючої дії на ЦОГ негативно впливає на слизову оболонку шлунка і метаболізм суглобового хряща [20, 21]. Разом із тим, окремими

дослідниками доведено, що ГА проявляє виражені хондро- і гастропротекторну дії [4, 8, 11, 15].

ВИСНОВОК. Узагальнюючи результати даного дослідження, що свідчать про відсутність дії ГА на простагландинову реакцію ока, відмінний від індометацину характер

впливу ГА на рівень ейкозаноїдів у сироватці крові інтактних щурів і тварин з карагеніновим запаленням, власні й літературні дані про виражені хондро- і гастропротекторну дії ГА, з достатнім ступенем упевненості можна стверджувати, що механізм протизапального впливу ГА здійснюється без участі ЦОГ-залежного синтезу простагландинів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бездетко Н.В. Сравнительная оценка эффективности современных нестероидных противовоспалительных средств для местного применения в офтальмологии // Клинич. фармація. – 2001. – **5**, № 4. – С. 34-37.
2. Дроговоз С.М., Зупанец І.А., Яковлева Л.В. и др. Глюкозамини – перспективні сахара для створення протизапальних засобів // Фармац. журн. – 1992. – № 2. – С. 37-41.
3. Зупанец І.А., Попов С.Б., Бездітко Н.В. та ін. Динаміка фармакологічних досліджень по вивченню аміноцукру глюкозаміну – потенційного протизапального, репаративного та хондропротекторного засобу // Матеріали Міжнародної конференції "Динаміка наукових досліджень". – Дніпропетровськ: Наука і освіта, 2002. – С. 49-50.
4. Зупанец І.А., Попов С.Б., Отрішко І.А. Фармакологічні механізми хондропротекторної дії композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом в умовах експериментального моделювання посттравматичного артрозу // Клинич. фармація. – 2003 – **7**, № 4. – С. 24-27.
5. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: Морион, 2000. – 320 с.
6. Леус Н.Ф., Логай И.М. Простагландины и родственные им соединения в офтальмологии // Офтальмолог. журн. – 1999. – № 4. – С. 264-270.
7. Логай И.М., Леус Н.Ф., Георгиев Д. и др. Сравнительное изучение эффективности нестероидных противовоспалительных средств на модели послеоперационного воспаления // Офтальмолог. журн. – 2001. – № 3. – С. 85-92.
8. Пропіснова В.В. Дослідження протизапальної активності діюсаглюкамину, оксаглюкамину і глюкозаміну гідрохлориду на стресовій моделі ураження слизової оболонки шлунка // Мед. хімія. – 2003. – **5**, № 2. – С. 49-52.
9. Регістр лікарських засобів України: 2000. Офіційне видання / Голов. ред. О.В. Стефанов. – К.: Авіцена, 2001. – 792 с.
10. Antcliff R.J., Drew T.R. The maintenance of peroperative mydriasis in phacoemulsification with topical diclofenac sodium // Eye. – 1997. – № 11. – P. 389-391.
11. De Mattei M., Pellati A., Pasello M. et al. High doses of glucosamine-HCl have detrimental effects on bovine articular cartilage explants cultured in vitro // Osteoarthritis Cartilage. – 2002. – № 10. – P. 816-825.
12. Flach A. Topically applied nonsteroidal anti-inflammatory drugs and corneal problems: an interim review and comment // Ophthalmology. – 2000. – **107**, № 7. – P. 1224-1226.
13. Herbert E., Batterbury M. Topical non-steroidals in ophthalmology keeping Hippocrates happy? // Eye News. – 2000. – **6**, № 5. – P. 6-16.
14. Jampol L.M. Nonsteroidal antiinflammatory drugs: Clinical Modules for ophthalmologist. – San Francisco: American Academy of Ophthalmology, 1997. – Module 15. – 60 p.
15. Keller L. Glucosamine for arthritis // Adv. Nurse Pract. – 2003. – № 11(6). – P. 19-21.
16. Kocak I., Yalvac I.S., Kocak A. Comparison of the anti-inflammatory effects of diclofenac and flurbiprofen eye drops after cataract extraction // Acta Ophthalmol. Scand. – 1998. – **76**, № 3. – P. 343-345.
17. Ocular effects of prostaglandins and other eicosanoids. Symposium proceedings // Surv. Ophthalmol. – 1997. – **41**, suppl. 2. – P. 1-144.
18. Sidiki S.S., Wykes W.N. Systemic diclofenac sodium to maintain mydriasis during phacoemulsification // J. Cataract Refract. Surg. – 1998. – **24**, № 5. – P. 684-688.
19. Tomas B.S., Torngren L., Lundberg K. Effect of diclofenac on prostaglandin liberation in the rabbit after photorefractive keratectomy // J. Refract. Surg. – 1997. – **13**, № 2. – P. 154-157.
20. Whittle B.J. Gastrointestinal effects of nonsteroidal anti inflammatory drugs // Fundam. Clin. Pharmacol. – 2003. – № 17 (3). – P. 301-313.
21. Willoughby D.A., Moore A.R., Colville-Nash P.R. COX-1, COX-2 and COX-3 and the future treatment of chronic inflammatory disease // The Lancet. – 2000. – № 355. – P. 646-648.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ГЛЮКОЗАМИНА ГИДРОХЛОРИДА, ИНДОМЕТАЦИНА И ДИКЛОФЕНАКА НАТРИЯ НА ПРОСТАГЛАНДИНОВУЮ РЕАКЦИЮ ГЛАЗА И СОДЕРЖАНИЕ ЭЙКОЗАНОИДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

И.А. Зупанец, Н.В. Бездетко
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Проведено сравнительное изучение влияния глюкозамина гидрохлорида, индометацина и диклофенака натрия на простагландиновую реакцию глаза при моделировании хирургического оперативного вмешательства на переднем отрезке глазного яблока у кроликов и содержание эйкозаноидов в сыворотке крови интактных экспериментальных животных и при моделировании асептического воспаления. Показано, что глюкозамина гидрохлорид, в отличие от индометацина и диклофенака натрия, не действует на простагландиновую реакцию глаза и не изменяет степени выраженности послеоперационного миоза у кроликов. Динамика эйкозаноидов в сыворотке крови интактных животных и на фоне развития асептического воспаления при введении глюкозамина и индометацина имеет существенные различия. Полученные результаты свидетельствуют о том, что глюкозамина гидрохлорид имеет иной, чем у стандартных нестероидных противовоспалительных средств, механизм противовоспалительного действия, не связанный с влиянием на ЦОГ-зависимый синтез простагландинов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **воспаление, заболевания глаза, лечение, глюкозамин.**

STUDY OF GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE, INDOMETHACIN AND DI-CLOFENAC SODIUM INFLUENCE ON PROSTAGLANDIN EYE REACTION AND EICOZANOID CONTENT IN BLOOD SERUM

I.A. Zupanets, N.V. Bezditko
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

Summary

It was carried out the comparative study of glucosamine hydrochloride, indomethacin and diclofenac sodium influence on prostaglandin eye reaction on the model of surgical operative intervention on a forward part of the rabbit eye and the eicozanoid content in blood serum on the model of rat aseptic inflammation. It was shown, that glucosamine hydrochloride in contrast to indomethacin and diclofenac sodium does not influence on prostaglandin eye reaction and does not change the degree of expressed postoperative miosis at rabbits. Dynamics of eicozanoids in blood serum of intact animals and against a background of aseptic development of inflammation at glucosamine and indomethacin introduction has essential distinctions. The received results testify, that glucosamine hydrochloride has another than standard nonsteroid antiinflammatory means mechanism of antiinflammatory action which is not connected with the influence on COX-dependent synthesis of prostaglandins.

KEY WORDS: **inflammation, eye diseases, treatment, glucosamine.**

Отримано 22.03.2004 р.

Адреса для листування: І.А. Зупанець, кафедра клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 27, Харків, 61002, Україна.

Для отримання оперативної інформації звертайтеся
до нашої сторінки в Інтернеті:
<http://tdma.edu.te.ua>

ВПЛИВ НАСТОЙКИ ПЕРСТАЧУ ПРЯМОСТОЯЧОГО НА ПОКАЗНИКИ БІЛКОВОГО ТА ЛІПІДНОГО ОБМІНУ КРОВІ ЩУРІВ

Н.Б. Тефтьєва

БУКОВИНСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

У роботі наведено результати досліджень впливу на біохімічні показники білкового та ліпідного обміну плазми крові щурів спиртової настойки з кореневища перстачу прямостоячого (1:5) (НПП), яку вводили внутрішньошлунково протягом 21 дня в дозі 0,05 та 0,1 мл на 100 г маси тіли. Зміни цих показників під дією 7-денного введення НПП були несуттєвими. Під впливом 14-денного введення НПП спостерігались зменшення вмісту триацилгліцеролів на 34,2 %, β -ліпопротеїнів – на 41,6 %, загальних ліпідів плазми крові – на 28,5 % на фоні неістотних змін рівня холестерину; збільшення вмісту загального білка на 12,2 %.

Протягом усього досліджу не змінювалась активність головних індикаторів цитолізу (аланінаміно-трансферази та аспартатамінотрансферази).

Зменшення вмісту загального холестерину на 23 % та збільшення рівня загальних ліпідів плазми крові на 22,6 % після 21-денного введення настойки свідчать про порушення обміну ліпідів при тривалому застосуванні НПП.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **настойка перстачу прямостоячого, альбумін, сечовина, триацилгліцероли, холестерин.**

ВСТУП. Однією з найбільш актуальних і, разом із тим, складних проблем сучасної медичної науки є проблема попередження виникнення та лікування соматичних захворювань, у патогенезі яких провідну роль відіграє дія на організм різних за своїм походженням стресових факторів [3]. Серед таких захворювань значне місце посідають захворювання шлунково-кишкового тракту. Для їх попередження та лікування часто застосовують фітопрепарати, оскільки вони дозволяють досягти позитивного терапевтичного ефекту при найменшому вираженні побічної дії препарату [2, 5].

Кореневище перстачу прямостоячого (*Potentilla erecta*, Raeush L. [5]) входить до складу фітокомпозицій, що застосовуються для лікування та профілактики захворювань шлунково-кишкового тракту [1, 9]. Досліджено антиоксидні властивості препаратів з кореневища перстачу прямостоячого [12, 14, 17]. Разом із тим, залишається нез'ясованим вплив цих препаратів на обмінні процеси.

Метою дослідження було вивчення впливу настойки перстачу прямостоячого (НПП) на показники білкового та ліпідного обміну крові щурів за умов фізіологічної норми.

© Н.Б. Тефтьєва, 2004.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Із висушеного кореневища, що відповідає вимогам ДЕСТ 6716-71, виготовлено настойку перстачу прямостоячого (1:5) на 40 % етиловому спирті згідно з вимогами Державної фармакопеї [12].

Дослідження проведено на статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою (180±10) г, які склали 3 групи (56 тварин): 1-ша – інтактні; 2-га – вводили НПП по 0,05 мл на 100 г маси тіла; 3-тя – вводили настойку по 0,1 мл на 100 г маси. Тварин утримували в стандартних умовах віварію. НПП вводили щодоби (вранці) внутрішньошлунково протягом 21 дня. Для отримання крові щурів знекровлювали шляхом декапітації під легким ефірним наркозом вранці натще-серце через 7, 14 та 21 добу від початку експерименту.

Об'єктом дослідження була гепаринізована плазма. У дослідках застосовано діагностичні набори реагентів вітчизняного виробництва та набори фірми "Lachema" (Чеська Республіка). Для комплектування біохімічних тестів користувалися сучасною класифікацією функціональних проб за синдромним принципом [16]. У плазмі крові визначали вміст загального білка біуретовим методом (діагностичний набір згідно з ТУУ 24607793.007-98) [4, 11]; вміст

альбуміну – за реакцією з бромкрезоловим зеленим у слабкокислому середовищі в присутності детергента (діагностичний набір згідно з ТУУ 24607793.013-98) [4, 11]; концентрацію сечовини – за методом, що ґрунтується на реакції Ферона (діагностичний набір згідно з ТУУ 24607793.001-98) [6, 11]; вміст триацилгліцеролів – за реакцією омилення їх гідроксидом калію в гліцерин, який при окисненні метаперіодатом калію перетворюється на формальдегід, що реагує з ацетилацетоном та іонами амонію [4, 11]; вміст β -ліпопротеїнів – за реакцією з гепариновим реактивом [4, 6]; вміст загальних ліпідів – за кольоровою реакцією із сульфюфосфіваніліновим реактивом [4, 11]; вміст загального холестерину – за методом Ілька, що ґрунтується на реакції Лібермана-Бурхардта [4, 11]. Активність аланінамінотрансферази (АЛТ) [КФ 2.6.1.2, аланін:2-оксоглутарат-амінотрансфераза] та аспартатамінотрансферази (АСТ) [КФ 2.6.1.1, аспартат:2-оксоглутарат-амінотрансфераза] плазми крові визначали динітрофенілгідразиним методом Райтмана-Френкеля (діагностичний набір згідно з ТУУ 24607793.005-98 і ТУУ 24607793.004-98) [4, 11].

Отримані під час досліду дані піддавали варіаційному статистичному аналізу з використанням параметричного t-критерію Стьюдента. Обчислення проводили із застосуванням програми "Statistica for Windows Release 4.3".

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз результатів дослідження (табл. 1) показав, що

протягом усього експерименту не змінювалась активність головних індикаторів цитолізу (АЛТ, АСТ) у тварин, які отримували НПП, порівняно з аналогічними показниками контрольних досліджень. Відсутність змін у концентрації альбуміну, а також підвищення концентрації загального білка плазми крові у тварин, які одержували НПП у дозі 0,05 мл на 100 г маси тіла протягом 14 та 21 доби можуть свідчити про відсутність негативного впливу настойки на білоксинтезувальну функцію печінки [7, 16].

Збільшення концентрації сечовини плазми крові на 38,2 % у групі щурів, які отримували 0,1 мл НПП на 100 г маси тіла протягом 7 днів, та на 34,4 % у тварин, які одержували НПП у дозі 0,05 мл на 100 г протягом 21 дня, може свідчити про відсутність деструктивного впливу настойки на біохімічні параметри функціонального стану печінки [7, 10, 16].

При дослідженні впливу НПП на показники ліпідного обміну знижувався рівень триацилгліцеролів плазми крові на 34,2 %, β -ліпопротеїнів – на 41,6 %, загальних ліпідів – на 28,5 % після 14-денного введення настойки у дозі 0,1 мл на 100 г маси тіла; через 21 добу залишався зменшеним вміст триацилгліцеролів та β -ліпопротеїнів, знизився вміст холестерину на 23 % та підвищився вміст загальних ліпідів на 22,6 % порівняно з контролем.

У щурів, які отримували НПП у дозі 0,05 мл на 100 г маси тіла, знизився рівень триацилгліцеролів плазми крові на 19,7 % та збільшився вміст загальних ліпідів на 27,4 % під впливом 21-денного введення настойки.

Таблиця 1 – Вплив настойки перстачу прямостоячого на біохімічні показники білкового та ліпідного обміну плазми крові щурів

Показник \ Група	Контроль	7 днів		14 днів		21 день	
		0,05 мл НПП/100 г	0,1 мл НПП/100 г	0,05 мл НПП/100 г	0,1 мл НПП/100 г	0,05 мл НПП/100 г	0,1 мл НПП/100 г
Загальний білок, г/л	66,50±2,50	66,70±2,20	68,40±1,90	74,60±1,10*	72,80±1,90	75,70±2,40*	70,30±2,60
Альбумін, г/л	38,2±2,1	35,5±1,8	38,4±2,0	41,0±2,4	39,2±2,2	39,1±1,5	36,9±2,3
Сечовина, ммоль/л	6,55±0,57	7,96±0,63	9,05±0,74*	6,88±0,50	7,27±0,62	8,80±0,55*	6,41±0,55
Аланін-аміно-трансфераза, нмоль/(с·л)	356,7±19,8	344,2±27,4	322,9±14,0	326,8±17,8	353,8±16,1	334,4±15,8	332,2±18,7
Аспартат-аміно-трансфераза, нмоль/(с·л)	338,2±25,1	349,2±11,7	362,3±17,2	320,2±25,3	331,4±15,8	309,3±19,4	296,5±29,1
Триацилгліцери, ммоль/л	0,76±0,05	0,93±0,07	0,87±0,04	0,68±0,06	0,50±0,05*	0,61±0,03*	0,55±0,05*
Холестерин загальний, ммоль/л	2,25±0,15	2,10±0,16	2,38±0,18	2,19±0,12	2,13±0,15	2,50±0,20	1,73±0,13*
Ліпіди загальні, г/л	2,74±0,25	2,53±0,30	2,45±0,26	2,31±0,21	1,96±0,22*	3,49±0,19*	3,36±0,11*
β -ліпопротеїни, г/л	1,20±0,13	1,17±0,14	1,35±0,17	0,93±0,14	0,70±0,10*	1,12±0,15	0,67±0,13*

Примітка. * – достовірність різниці порівняно з контролем ($p \leq 0,05$).

Зниження під впливом 14-денного введення НПП вмісту β -ліпопротеїнів та триацилгліцеролів як атерогенних факторів на фоні несуттєвих змін рівня холестерину можна розцінювати як позитивний вплив настойки на досліджувані показники ліпідного обміну [13, 15]. Проте підвищення концентрації загальних ліпідів плазми крові та зменшення концентрації загального холестерину після 21-денного введення НПП свідчать про порушення ліпідного обміну при тривалому застосуванні настойки [7, 8].

ВИСНОВКИ. 1. Показники білкового та ліпідного обміну плазми крові щурів не зазна-

вали істотних змін при введенні НПП (1:5 на 40 % етиловому спирті) протягом 7 днів.

2. Під впливом введення НПП протягом 14 днів у дозі 0,05 та 0,1 мл на 100 г маси тіла щура зміни показників білкового та ліпідного обміну можна розцінювати як позитивні (зменшення вмісту триацилгліцеролів, β -ліпопротеїнів та загальних ліпідів плазми крові, збільшення рівня загального білка).

3. Тривале застосування НПП (протягом 21 дня) викликало негативний вплив на досліджувані показники ліпідного обміну (зменшення концентрації загального холестерину на 23 % та збільшення концентрації загальних ліпідів плазми крові на 22,6 % порівняно з контролем).

ЛІТЕРАТУРА

1. Богатов Ю.Н. Комплексное лечение язвенной болезни с применением фитосредств: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Москва, 2002. – 24 с.
2. Зиньковский В.Г., Головенко Н.Я., Жук О.В., Силантьев С.А. Особенности взаимосвязи основных фундаментальных характеристик системы "организм-лекарство" // Журн. АМН України. – 2001. – № 1. – С. 23-27.
3. Коломиец Н.М., Новожилов В.Г., Волчек И.А. Влияние экстремальных факторов на резистентность здорового человека // Воен.-мед. журн. – 1997. – № 5. – С. 49-53.
4. Комаров Ф.И., Коровкин Б.Ф., Меньшиков В.В. Биохимические исследования в клинике. – Элиста: АПП "Джангар", 1998. – 250 с.
5. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / За ред. А.М. Гродзінського. – К.: Голов. ред. УРЕ, 1991. – 543 с.
6. Любина А.Я., Ильичева Л.П., Катасонова П.В., Петросова С.А. Клинические лабораторные исследования. – М.: Медицина, 1984. – 288 с.
7. Макаренко О.Б. Оцінка функціонального стану печінки у хворих на хронічні захворювання гепатобіліарної системи // Одес. мед. журн. – 2001. – № 6 (68). – С. 67-69.
8. Никитин Ю.П., Курилович С.А., Давидик Г.С. Печень и липидный обмен. – Новосибирск: Наука, 1985. – 191 с.
9. Пат. Україна. N14602A, 6A61 K35/00. Заявка № 94022983 від 03.02.1994. Засіб для виведення радіонуклідів і нормалізації імунологічної реактивності організму / Жила В.А., Гаценко Г.М., Кургаев В.В. та ін. – Опубл. ПВ. – 1997. – № 2. – 3 с.
10. Передерий В.Г., Хмелевский Ю.В., Коноплева Л.В. и др. Клиническая оценка биохимических показателей при заболеваниях внутренних органов. – К.: Здоров'я, 1993. – 192 с.
11. Руководство по клинической лабораторной диагностике // Под ред. М.А. Базарновой, В.Т. Морозовой. – К.: Вища школа, 1990. – Ч. 3: Клиническая биохимия. – 320 с.
12. Тейтєєва Н.Б., Мещишен І.Ф. Перекисне окиснення ліпідів та стан антиоксидантної системи крові щурів за умов токсичного гепатиту та дії настоянки перстачу прямиостоячого // Мед. хімія. – 2003. – 5, № 4. – С. 75-79.
13. Титов В.Н. Липопротеины высокой плотности: структура, функция и диагностическое значение (лекция) // Клини. лаб. диагностика. – 2000. – № 2. – С. 25-33.
14. Триль В.М., Шишкина Е.С. Биологическая активность представителей рода *Potentilla L.* и перспективы их использования в народном хозяйстве // Ресурсы и интродукция полезных растений Сибири. – Новосибирск: Наука, 1981. – С. 147-154.
15. Фролькис В.В., Сыкало Н.В., Кульчицкий О.К. и др. Липопротеиды крови и их влияние на сосудистый тонус у животных разного возраста // Доп. НАНУ. – 1995. – № 5. – С. 132-135.
16. Хазанов А.И. Функциональная диагностика болезней печени. – М.: Медицина, 1988. – 304 с.
17. Bos M.A., Vennat B., Meunier M.T. et al. Procyanidins from tormentil: antioxidant properties towards lipoperoxidation and anti-elastase activity // Biological and Pharmaceutical Bulletin. – 1996. – 19, № 1. – P. 146-148.

ВЛИЯНИЕ НАСТОЙКИ ЛАПЧАТКИ ПРЯМОСТОЯЧЕЙ НА ПОКАЗАТЕЛИ БЕЛКОВОГО И ЛИПИДНОГО ОБМЕНА В КРОВИ КРЫС

Н.Б. Тефтуева

БУКОВИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

Резюме

В работе наведены результаты исследований влияния на биохимические показатели белкового и липидного обмена плазмы крови крыс спиртовой настойки из корневища лапчатки прямостоячей (1:5) (НЛП), которую вводили интражелудочно на протяжении 21 дня в дозе 0,05 и 0,1 мл на 100 г массы тела. Изменения этих показателей под действием 7-дневного введения НЛП были незначительными. Под влиянием 14-дневного введения НЛП наблюдались уменьшение содержания триацилглицеролов на 34,2 %, β -липопротеинов на 41,6 %, общих липидов плазмы крови – на 28,5 % на фоне незначительных изменений уровня холестерина, увеличение содержания общего белка на 12,2 %. На протяжении всего исследования не изменялась активность главных индикаторов цитолиза (аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы).

Уменьшение содержания общего холестерина на 23 % и увеличение уровня общих липидов плазмы крови на 22,6 % после 21-дневного введения настойки свидетельствуют о нарушении обмена липидов при длительном применении НЛП.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: настойка лапчатки прямостоячей, альбумин, мочевины, триацилглицеролы, холестерин.

INFLUENCE OF POTENTILLA TORMENTILLA TINCTURE ON THE INDICES OF PROTEIN AND LIPID METABOLISM IN RAT BLOOD

N. B. Teftuyeva

BUCOVYNIAN STATE MEDICAL ACADEMY

Summary

The article presents the results of investigations of the spirituous tincture from the *Potentilla tormentilla* rhizome (TPTR) (1:5) influence on the biochemical indices of the rat protein and lipid metabolism. The tincture was administered intragastrically during 21 days in a dose of 0,05 and 0,1 ml per 100 g of the animal body mass. Changes of these parameters under the influence of the tincture (TPTR) administered during 7 days were insignificant. Under the influence of tincture introduction during 14 days the decreasing the content of acylglycerols by 34,2 %, β -lipoproteins by 41,6 %, total lipids of blood serum by 28,5 % against a background of insignificant changes of cholesterol level, increasing the content of total protein by 12,2 % was observed.

The activity of the main enzymes-markers of cytolysis (alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase) did not alter over the whole period of the research.

A decrease of the concentration of total blood plasma cholesterol by 23 % and an increase of the level of blood plasma total lipids by 22,6 % after a 21-day administration of the tincture testify to negative effect on the lipid metabolism parameters at a prolonged TPTR application.

KEY WORDS: *Potentilla tormentilla* tincture, albumin, urea, triacylglycerols, cholesterol.

Отримано 09.04.2004 р.

Адреса для листування: Н.Б. Тефтуева, кафедра медичної хімії Буковинської державної медичної академії, вул. Богомольця, 2, Чернівці, 58000, Україна.

Для отримання оперативної інформації звертайтеся
до нашої сторінки в Інтернеті:
<http://tdma.edu.te.ua>

УДК: 616.441-008.61:612.115-019

ХАРАКТЕРИСТИКА ЗМІН ІНТЕНСИВНОСТІ І СТРУКТУРИ ФІБРИНОЛІЗУ У ТВАРИН З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ГІПЕРТИРЕОЗОМ

О.А. Оленович

БУКОВИНСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

Експериментально встановлено, що у плазмі крові, сечі й тканинах нирок та щитоподібної залози щурів з гіпертиреозом спостерігається підвищення інтенсивності фібринолізу. У плазмі крові гіпертиреодних тварин на тлі значного зростання ферментативної фібринолітичної активності відбувається пригнічення неензиматичного лізису фібрину. Найбільшою мірою вона зростає в тканині щитоподібної залози, тоді як у нирках спостерігається лише недостовірне підвищення тканинного фібринолізу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіпертиреоз, фібриноліз, плазма, сеча, нирки, щитоподібна залоза.

ВСТУП. У регуляції агрегатного стану крові, а також циркуляції крові на рівні мікроциркуляторних одиниць, важливу роль відіграє система фібринолізу [1]. Окремі повідомлення свідчать про участь гормонів щитоподібної залози у такому важливому біологічному процесі, як згортання крові [5]. В останні роки велику увагу в механізмах гемостазу приділяють взаємодії процесів фібриногенезу і тканинного фібринолізу. Водночас вплив тиреоїдних гормонів на інтенсивність тканинного лізису фібрину вивчено недостатньо.

Метою дослідження було з'ясувати характер змін тканинного фібринолізу в плазмі крові, сечі, нирках та щитоподібній залозі тварин з експериментальним гіпертиреозом.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження виконано на 28 статевозрілих білих щурках-самцях, яким L-тироксин вводили внутрішньо-шлунково в дозі 200 мкг/кг маси тіла щоденно впродовж 14 діб. Контрольним тваринам вводили відповідний об'єм розчинника. На 15-ту добу експерименту тварин декапітували під легкою ефірною анестезією. Відразу після евтаназії щурів щитоподібну залозу і нирки заморожували у рідкому азоті для подальших біохімічних досліджень. Наважки тканин внутрішніх органів гомогенізували у 2,0 мл боратного буфера (рН-9,0). Визначення сумарного, ферментативного і неферментативного фібринолізу в плазмі крові, сечі та тканинах внутрішніх органів проводили за лізисом азофібрину © О.А. Оленович, 2004.

("Simko Ltd", Україна). При інкубації азофібрину зі стандартною кількістю плазміногену в присутності активаторів та інгібіторів фібринолізу, які містяться в плазмі крові, сечі або тканинах, утворюється плазмін, а інтенсивність фібринолізу оцінюють за ступенем забарвлення розчину в лужному середовищі в присутності ϵ -амінокапронової кислоти (неферментативний фібриноліз) або без неї (сумарна фібринолітична активність). Різниця між даними показниками відповідає інтенсивності ферментативного фібринолізу [6]. Результати дослідження опрацьовували методами варіаційного статистичного аналізу з визначенням критерію Стюдента за програмою "BioStat" [2].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У щурів з експериментальним гіпертиреозом сумарна фібринолітична активність плазми крові перевищувала контрольні величини на 20,2 % ((1,14 \pm 0,06) мкг азофібрину/мл за 1 год у контролі та (1,39 \pm 0,07) мкг азофібрину/мл за 1 год у досліді; n=26, p<0,05). Неферментативна фібринолітична активність, навпаки, зменшувалась на 42,6 % ((0,47 \pm 0,04) та (0,27 \pm 0,02) мкг азофібрину/мл за 1 год відповідно; n=26, p<0,001), тоді як інтенсивність ферментативного фібринолізу зростала на 64,7 % ((0,68 \pm 0,03) та (1,12 \pm 0,03) мкг азофібрину/мл за 1 год відповідно; n=26, p<0,001). У гіпертиреодних тварин змінювалась структура сумарної фібринолітичної активності плазми крові, у котрій помітно переважала частка ензиматичного лізису фібрину (рис. 1).

Зміни фібринолітичної активності сечі при експериментальному гіпертиреозі характеризувались значним підвищенням як сумарної ((0,51±0,07) мкг азофібрину/мл за 1 год у контролі та (1,24±0,04) мкг азофібрину/мл за 1 год у досліді; n=26, p<0,001), так і неферментативної ((0,25±0,03) та (0,70±0,02) мкг азофібрину/мл за 1 год відповідно; n=26, p<0,001), а також ферментативної ((0,26±0,04) та (0,54±0,03) мкг азофібрину/мл за 1 год відповідно; n=26, p<0,001) фібринолітичної активності, відповідно, у 2,4, 2,8 та 2,1 раза. Суттєвих змін структури сумарного фібринолізу в сечі не спостерігалось (рис. 2).

На 14-ту добу експериментального гіпертиреозу в нирковій тканині достовірних змін тканинного фібринолізу не спостерігалось: сумарна фібринолітична активність хоча і зростала відносно контролю на 20,3 %, проте недостовірно ((8,70±0,46) мкг азофібрину/г за 1 год у контролі та (22,50±1,71) мкг азофібрину/г за 1 год у досліді; n=26, p>0,1). Підвищення неферментативної фібринолітичної активності на 20,2 % також виявилось недостовірним (відповідно (9,90±0,24) та (11,90±0,89) мкг азофібрину/1 за 1 год; n=26, p>0,1), як і збільшення на 21,8 % інтенсивності ферментативного фібринолізу ((8,70±0,25) та (10,60±0,82) мкг азофібрину/г за 1 год

відповідно; n=26, p>0,1). Структура сумарної фібринолітичної активності у тканині нирок гіпертиреоїдних щурів відповідала такій у контрольних тварин (рис. 3).

Разом із тим, у тканині щитоподібної залози сумарна фібринолітична активність різко зростала і втричі перевищувала контрольні показники ((40,60±4,36) мкг азофібрину/г за 1 год у контролі та (121,10±6,21) мкг азофібрину/1 за 1 год у досліді; n=26, p<0,001), що було зумовлено збільшенням інтенсивності як неферментативного ((22,30±1,93) та (65,10±3,70) мкг азофібрину/1 за 1 год відповідно; n=26, p<0,001), так і ферментативного ((18,30±0,89) та (55,90±2,56) мкг азофібрину/1 за 1 год відповідно; n=26, p<0,001) фібринолізу. Структура сумарної фібринолітичної активності в тканині щитоподібної залози гіпертиреоїдних щурів не порушувалась (рис. 4).

Отримані результати свідчать про те, що гіпертиреоїдний стан суттєво впливає на інтенсивність і структуру як плазмового, так і тканинного фібринолізу, що слід враховувати при складанні комплексних лікувальних програм для хворих на тиреотоксикоз [3, 7]. Крім того, порушення функціонального стану органів, характерні для гіпертиреозу [4], можуть бути пов'язані зі змінами інтенсивності плазмового та (або) тканинного фібринолізу.

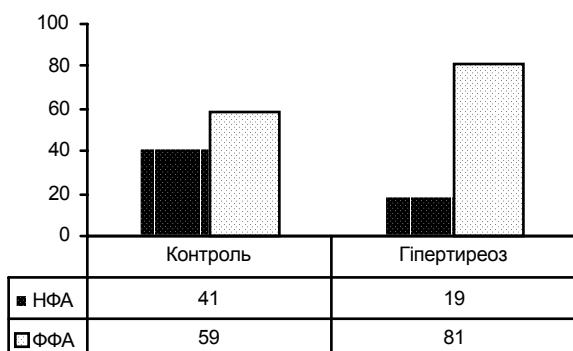


Рис. 1. Характеристика структури плазмового фібринолізу у щурів з експериментальним гіпертиреозом (у % від СФА).

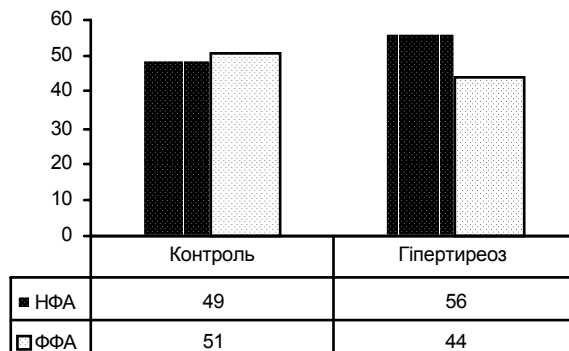


Рис. 2. Характеристика структури сумарної фібринолітичної активності сечі у щурів з експериментальним гіпертиреозом (у % від СФА).

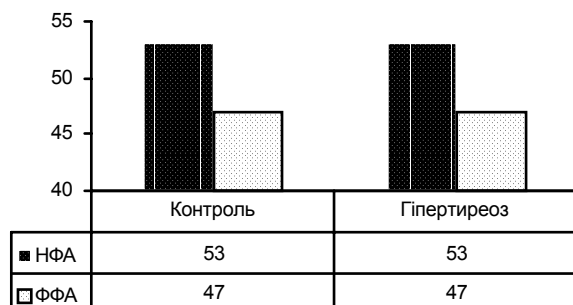


Рис. 3. Характеристика структури сумарної фібринолітичної активності в нирках щурів з експериментальним гіпертиреозом (у % від СФА).

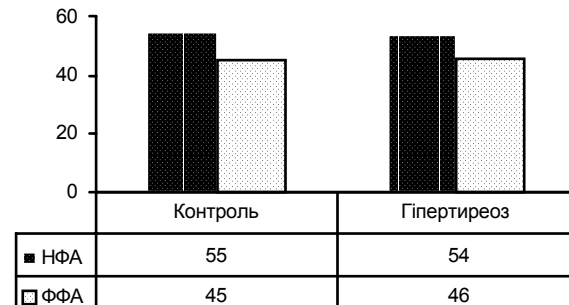


Рис. 4. Характеристика структури сумарної фібринолітичної активності в щитоподібній залозі щурів з експериментальним гіпертиреозом (у % від СФА).

ВИСНОВКИ. 1. При експериментальному гіпертиреозі в плазмі крові, сечі й тканинах нирок та щитоподібної залози спостерігаються типові зміни фібринолізу, спрямовані на підвищення його інтенсивності.

2. У плазмі крові гіпертиреоїдних щурів на тлі значного підвищення ферментативної

фібринолітичної активності відбувається пригнічення неензиматичного лізису фібрину.

3. Найбільшою мірою ферментативна фібринолітична активність зростає в тканині щитоподібної залози, тоді як у нирках спостерігається лише недостовірне підвищення тканинного фібринолізу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Братчик А.М. Клинические проблемы фибринолиза. – К.: Здоров'я, 1993. – 344 с.

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

3. Гюльмамедов Ф.І., Ярощак В.В., Білозерцев О.М. та ін. Особливості діагностики та лікування тиреотоксичного зоба. – Вісник наук. дослідж. – 2001. – № 4. – С. 31.

4. Калинина А.П. Современные аспекты тиреотоксикоза: Лекция // Пробл. эндокринологии. – 2000. – 46, № 4. – С. 23.

5. Кравец Е.Б., Новицкий В.В., Грацианова Н.Д. Обратимая агрегация эритроцитов у детей с патологией щитовидной железы // Пробл. эндокринологии. – 1999. – 45, № 2. – С. 17-19.

6. Пат. № 30727А, МПК G J 01 № 22.48. Спосіб визначення тканинної фібринолітичної активності / Боднар Б.М., Кухарчук О.Л., Магальяс В.М. та ін. – Від 17.05.2000. – 3 с.

7. Черенько М.П. Погляди на сучасний стан тиреоїдних захворювань, їх діагностики та лікування // Вісник наук. дослідж. – 2001. – № 4. – С. 10-12.

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ ИНТЕНСИВНОСТИ И СТРУКТУРЫ ФИБРИНОЛИЗА У ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ГИПЕРТИРЕОЗОМ

О.А. Оленович

БУКОВИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

Резюме

Експериментально встановлено, що в плазмі крові, мочі, тканинах нирок і щитовидної залози крыс з гіпертиреозом спостерігається підвищення інтенсивності фібринолізу. В плазмі крові гіпертиреоїдних тварин на фоні значного візрастання ферментативної фібринолітичної активності відбувається пригнічення неензиматичного лізису фібрину. В найбільшій ступені вона візрастає в тканині щитовидної залози, тоді як в нирках спостерігається тільки недостовірне підвищення тканевого фібринолізу.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипертиреоз, фибринолиз, плазма, моча, почки, щитовидная железа.

THE CHARACTERISTIC OF CHANGES AND STRUCTURE OF FIBRINOLYSIS IN RATS WITH EXPERIMENTAL HYPERTHYREOSIS

O.A. Olenovych

BUCOVYNIAN STATE MEDICAL ACADEMY

Summary

The typical changes of fibrinolysis, directed to its intensification, were established in blood plasma, urine, kidney and thyroid tissues of rats with experimental hyperthyreosis. Against a background of considerable increase of fermentative fibrinolytic activity, non-enzymatic lysis of fibrin was inhibited in plasma of hyperthyreoid animals. Fermentative fibrinolytic activity mostly increases in thyroid tissue while in kidneys is observed only unauthentic increase of tissue fibrinolysis.

KEY WORDS: hyperthyreosis, fibrinolysis, plasma, urine, kidneys, thyroid gland.

Отримано 09.03.2004 р.

Адреса для листування: О.А. Оленович, пр. Незалежності, 92 Б, кв. 17, Чернівці, 58029, Україна.

ВПЛИВ КАСТРАЦІЇ НА ВМІСТ ТА ФЕРМЕНТАТИВНИЙ ГІДРОЛІЗ АЦЕТИЛХОЛІНУ ПРИ АДРЕНАЛІНОВІЙ МІОКАРДІОДИСТРОФІЇ У ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ

М.Р. Хара

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Вивчали метаболізм ацетилхоліну в міокарді при розвитку адреналінової міокардіодистрофії у щурів різної статі. Розвиток патології характеризується активнішим пригніченням гідролізу ацетилхоліну та вищим його рівнем у серці самок. Кастрація більше впливає на метаболізм медіатора в самок при розвитку дистрофії міокарда, що доводить роль естрогенів у контролі за метаболізмом ацетилхоліну.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ацетилхолін, самці, самки, кастрація, серце, адреналін

ВСТУП. Реактивність організму визначає особливість розвитку та завершення патологічних процесів, його здатність адаптуватися до надзвичайних чинників. Переважання в структурі захворюваності та смертності, за даними ВООЗ, відсотка серцевої патології є наслідком урбанізації суспільства та постійних стресів. Відомим є факт переважання показника захворюваності та смертності від патології серця серед чоловіків. Незважаючи на достатній обсяг наукових даних про особливості патогенезу некротичного пошкодження міокарда та його наслідків [4], не враховуються адаптаційні та компенсаторні особливості жіночого організму, оскільки основним об'єктом експерименту залишаються тварини чоловічої статі. Важливим компонентом адаптації організму до стресорних впливів, які провокують некротичні зміни в міокарді, є холінергічний контроль за функціями та метаболізмом серця, що обмежує патогенну дію адреналіну. Окремі наукові джерела відображають особливості холінергічного статусу тварин різної статі в умовах стресу, що не супроводжується пошкодженням серця [1, 2]. Метою наших досліджень стало вивчення особливостей метаболізму ацетилхоліну в серці тварин різної статі при формуванні адреналінових некрозів і впливу кастрації на обмін медіатора в пошкодженому міокарді.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на статевозрілих щурах обох статей, яким вводили кардіонекрозогенну дозу адреналіну (1 мг/кг), моделюючи адреналінову міокардіо-

© М.Р. Хара – к.мед.н., 2004.

дистрофію (АМД). Вміст ацетилхоліну (АХ) вивчали в передсердях та шлуночках методом [7], а ферментативний гідроліз (ФГ) – за методом [5]. Для з'ясування ролі статевих гормонів тварин кастрували методом [3] і брали в експеримент не раніше ніж через 4 тижні. Статистичну обробку даних проводили за оцінкою t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Контрольні групи тварин не відрізнялися за рівнем медіатора в передсердях та шлуночках (табл. 1). Введення адреналіну викликало загибель 14,7 % самок і 44,2 % самців. На 1 та 24 год розвитку АМД у передсердях самців рівень АХ достовірно був меншим за контроль. У самок вміст медіатора на 1 год АМД зберігався на рівні контролю, а на 24 год – знизився. Порівняння груп показало, що у самок рівень АХ був більшим, ніж у самців, на 24,4 та 50,0 % відповідно, очевидно, за рахунок медіаторної фракції. У шлуночках самців вміст АХ достовірно зменшився протягом усього досліду на 40,8 %, у самок на 1 год АМД він практично не змінювався, а на 24 год став нижчим за контроль лише на 22,9 %. Активність ФГ АХ у передсердях інтактних самок була на 9 % більшою, ніж у самців, що свідчить про активніший синтез медіатора. Розвиток патологічного процесу викликав пригнічення інтенсивності ФГ АХ у передсердях усіх тварин, активнішим цей процес був у самок, завдяки чому зникла різниця між щурами різної статі. У шлуночках спостерігали аналогічну динаміку, в самців інтенсивність ФГ АХ зменшилася на 30,7 %, у самок – на 34,9 %. Переважання рівня

АХ при розвитку АМД у передсердях і шлуночках самок, порівняно із самцями, можна оцінити як позитивне явище, що сприяє зниженню інтенсивності метаболізму та потреби в кисні в умовах патогенної дії адреналіну. Дані попередніх досліджень [6] показали, що відсоток некротизованих міокардіоцитів у самок менший. Кастрація зумовила збільшення рівня АХ у передсердях самців і самок (табл. 2). Розвиток АМД у самців викликав зменшення вмісту медіатора в передсердях лише на 24 год у 4,6 раза. У самок зниження рівня АХ спостерігали на 1 год в 1,7 раза, до 24 год досліджу мало місце підвищення його на 20,0 %. Проте, як і в групах некастрованих тварин, вміст медіатора в момент максимального вираження некротично-дистрофічного процесу в самок був більшим. Такий стан речей, очевидно, відображає генетично зумовлену особливість активнішого синтезу АХ у самок. У шлуночках кастрованих самців рівень АХ на 1 год АМД зростав на 48,9 %, на 24 год знижувався у 2,6 раза, у самок на 1 год патології він зменшувався у 2,4 раза і був меншим, ніж у кастрованих самців та некастрованих самок у 3,2 і 2,4 раза відповідно, а на 24 год – різко збільшувався і переважав показник кастрованих самців у 3,6 раза і некастрованих самок – в 1,9 раза. Активність ФГ АХ у передсердях кастрованих самців знизилася до 24 год АМД

на 24,2 %, у самок – на 36,0 %. У шлуночках кастрованих тварин спостерігали таку ж динаміку ФГ, пригнічення процесу в самців становило 28,1 %, у самок – 41,8 %. Очевидно, більш інтенсивна динаміка цього показника у самок сприяла значному нагромадженню АХ у міокарді шлуночків. Порівняння груп кастрованих та некастрованих тварин показало, що на тлі кастрації пригнічення ФГ АХ за умов розвитку АМД є більш активним у самок. Це, у свою чергу, доводить активнішу роль естрогенів у регуляції метаболізму АХ при розвитку некротично-дистрофічних змін міокарда. Важливим за умов розвитку АМД є рівень АХ у міокарді шлуночків на 1 год патології, адже цей термін відповідає початку процесу некрозотворення, і роль киснезберігального медіатора переоцінити важко. При кастрації саме на цьому етапі рівень АХ у самок значно менший, ніж у самців, що може негативно вплинути на стан міокарда в разі прогресування адреналінової дистрофії.

ВИСНОВКИ. 1. Розвиток некротичного процесу в міокарді шлуночків супроводжується інтенсивнішим пригніченням ферментативного гідролізу АХ та переважанням рівня медіатора у самок, що доводить статеву відмінність метаболізму киснезберігального медіатора.

Таблиця 1 – Вміст ацетилхоліну ($\times 10^3$ нмоль/кг) в серці самців і самок з адреналіновою міокардіодистрофією

Група тварин	Тканина	Контроль	1 год АМД	24 год АМД
Некастровані самці, n=8,8,8	Передсердя	35,7 \pm 1,5 ¹	26,6 \pm 1,3 ²	22,3 \pm 0,9 ³
	Шлуночки	5,4 \pm 0,4 ⁴	4,1 \pm 0,2 ⁵	3,2 \pm 0,1 ⁶
Некастровані самки, n=8,8,8	Передсердя	32,5 \pm 4,3 ⁷	37,0 \pm 1,1 ⁸	27,8 \pm 2,0 ⁹
	Шлуночки	5,9 \pm 0,3 ¹⁰	5,1 \pm 0,2 ¹¹	4,8 \pm 0,2 ¹²
Кастровані самці, n=7,7,7	Передсердя	51,3 \pm 3,2 ¹³	61,3 \pm 3,9 ¹⁴	11,1 \pm 1,6 ¹⁵
	Шлуночки	4,5 \pm 0,5 ¹⁶	6,7 \pm 0,5 ¹⁷	2,6 \pm 0,2 ¹⁸
Кастровані самки, n=7,7,7	Передсердя	50,2 \pm 3,2 ¹⁹	29,1 \pm 4,0 ²⁰	36,1 \pm 3,3 ²¹
	Шлуночки	5,1 \pm 0,7 ²²	2,1 \pm 0,3 ²³	9,3 \pm 0,3 ²⁴

Примітка: $p < 0,05$ ($p_{1-2}; p_{1-3}; p_{4-5}; p_{4-6}; p_{2-6}; p_{8-9}; p_{4-5}; p_{4-6}; p_{10-12}; p_{5-11}; p_{6-12}; p_{13-15}; p_{14-15}; p_{19-20}; p_{19-21}; p_{14-20}; p_{15-21}; p_{16-17}; p_{16-18}; p_{22-23}; p_{22-24}; p_{17-23}; p_{18-24}$).

Таблиця 2 – Холінестеразна активність (ммоль/кг-год) міокарда тварин різної статі в умовах адреналінової міокардіодистрофії

Група тварин	Тканина	Контроль	1 год АМД	24 год АМД
Некастровані самці, n=8,8,8	Передсердя	136,6 \pm 1,9 ²⁵	129,5 \pm 2,5 ²⁶	120,0 \pm 2,6 ²⁷
	Шлуночки	106,2 \pm 1,9 ²⁸	90,5 \pm 5,6 ²⁹	73,6 \pm 2,6 ³⁰
Некастровані самки, n=8,8,8	Передсердя	150,6 \pm 3,2 ³¹	130,1 \pm 3,3 ³²	121,9 \pm 3,6 ³³
	Шлуночки	95,6 \pm 2,4 ³⁴	78,1 \pm 3,0 ³⁵	62,2 \pm 2,8 ³⁶
Кастровані самці, n=8,8,8	Передсердя	120,5 \pm 7,1 ³⁷	111,9 \pm 8,8 ³⁸	90,6 \pm 3,7 ³⁹
	Шлуночки	109,8 \pm 3,3 ⁴⁰	92,7 \pm 1,1 ⁴¹	78,9 \pm 4,2 ⁴²
Кастровані самки, n=8,8,8	Передсердя	136,6 \pm 3,5 ⁴³	100,6 \pm 5,9 ⁴⁴	87,5 \pm 2,7 ⁴⁵
	Шлуночки	100,7 \pm 3,2 ⁴⁶	85,2 \pm 3,3 ⁴⁷	58,6 \pm 2,9 ⁴⁸

Примітка: ($p < 0,05$) ($p_{25-27}; p_{31-32}; p_{31-33}; p_{25-31}; p_{28-29}; p_{28-30}; p_{34-35}; p_{34-36}; p_{28-34}; p_{37-39}; p_{43-44}; p_{43-45}; p_{40-41}; p_{40-42}; p_{46-47}; p_{46-48}; p_{42-48}; p_{27-39}; p_{31-43}; p_{32-44}; p_{33-48}$).

2. Кастрація активніше впливала на метаболізм АХ при пошкодженні міокарда самок, викликала значне зниження його рівня

на ранніх етапах патології, незважаючи на пригнічення ферментативного гідролізу, що доводить значну роль естрогенів у регуляції метаболізму медіатора.

ЛІТЕРАТУРА

1. Анищенко Т.Г., Гудкова Е.В. Половые различия в чувствительности белых крыс к адреналину // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1992. – **113**, № 6. – С. 577-579.

2. Анищенко Т.Г., Мамонтов Б.Н., Шорина Л.Н. Половые различия холинергического статуса у белых крыс // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1992. – **114**, № 10. – С. 351-353.

3. Кабак Я.М. Практикум по эндокринологии. – М.: Изд-во Московского университета, 1968. – 375 с.

4. Палеев Н.Р., Гуревич М.А. Некоронарогенные

заболевания миокарда. Состояние проблемы // Клинич. медицина. – 1998. – № 9. – С. 4-8.

5. Пушкина Н.Н. Биохимические методы исследования. – М.: Наука, 1963. – 223 с.

6. Хара М.Р., Денефіль О.В., Бондар Я.Я., Файфура В.В. Особливості структурного пошкодження серця при адреналіновій міокардіодистрофії у щурів з різними типами реактивності // Укр. мед. альм. – 2000. – **3**, № 3. – С. 168-171.

7. Rothschild K.E. Das herzmuskeleigene Acetylcholin // Pflug. Arch. – 1954. – № 258. – P. 406-414.

ВЛИЯНИЕ КАСТРАЦИИ НА СОДЕРЖАНИЕ И ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ГИДРОЛИЗ АЦЕТИЛХОЛИНА ПРИ АДРЕНАЛИНОВОЙ МИОКАРДИОДИСТРОФИИ У КРЫС РАЗЛИЧНОГО ПОЛА

М.Р. Хара

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Изучали метаболизм ацетилхолина в миокарде при развитии адреналиновой миокардиодистрофии у крыс различного пола. Развитие патологии характеризуется более активным угнетением гидролиза ацетилхолина и высшим его уровнем в сердце самок. Кастрация больше влияет на метаболизм медиатора у самок при развитии дистрофии миокарда, что доказывает роль эстрогенов в контроле за метаболизмом ацетилхолина.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **ацетилхолин, самцы, самки, кастрация, сердце, адреналин.**

CASTRATION INFLUENCE ON THE LEVEL AND ACETYLCHOLINE ENZYME HYDROLYSIS IN DIFFERENT SEX RATS AT ADRENALINE MYOCARDYODISTROPHY

M.R. Khara

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

There have been studied acetylcholine metabolism in myocardium during the development of adrenaline myocardiodystrophy in rats of different sex. More intensive reducing of acetylcholine hydrolysis and its higher level in female's heart characterize the pathology development. Castration has more intensive effect on mediator metabolism of females during the development of myocardiodystrophy. That proves the role of estrogens in acetylcholine metabolism control.

KEY WORDS: **acetylcholine, males, females, castration, heart, adrenaline.**

Отримано 23.04.2004 р.

Адреса для листування: М.Р. Хара, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ СПОЛУКИ З АНТИТИРЕОЇДНОЮ ДІЄЮ НА ЕНЕРГЕТИЧНЕ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ МІОКАРДА ПРИ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОМУ СТРЕСІ

Л.М. Вороніна, В.М. Кравченко

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Проведено дослідження впливу нової сполуки "Тетракон" з вираженою антитиреоїдною дією на енергетичне забезпечення міокарда при іммобілізаційному стресі. Встановлено, що препарат у наших експериментах не сприяє збільшенню рівня енергозабезпечення серцевого м'яза при стресі, оскільки концентрація АТФ у порівнюваних групах тварин під впливом введеної сполуки практично не змінюється. Можливо, специфічна дія препарату не опосередковується його впливом на стан енергетичного обміну в тканинах внутрішніх органів, зокрема серцевого м'яза.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: стрес, міокард, енергозабезпечення, тиреоїдні гормони, сполука "Тетракон".

ВСТУП. Зменшення рівня енергетичного забезпечення серцевого м'яза при стресі супроводжується порушенням його скорочувальної функції та електричної активності [3, 7]. Генерація АТФ є найбільш швидким механізмом утворення АТФ, необхідного для термінового включення процесу м'язового скорочення. За рахунок дії креатинфосфокіназного механізму можливе забезпечення інтенсивної роботи м'язів протягом короткого періоду, що потрібний для підключення інших біоенергетичних механізмів [2].

При дисфункції щитоподібної залози спостерігаються зміни в серцево-судинній системі, які бувають результатом як прямої дії тиреоїдних гормонів на міокард, так і опосередкованої через гемодинамічні порушення. Зокрема, при гіпертиреозі у міокарді спостерігаються зниження рівня АТФ і креатинфосфату, гальмування синтезу глікогену і білка, переважання катаболічних процесів [4]. Тиреоїдні гормони, як відомо, регулюють енергетичний обмін (утворення АТФ) шляхом підвищення дихальної здатності мітохондрій внаслідок індукції ферментів дихального ланцюга, транспорту водню із цитоплазми до мітохондрій тощо [2].

Вищенаведене стало обґрунтуванням дослідження впливу нової синтетичної сполуки, яка проявляє виражену антитиреоїдну дію, на енергетичне забезпечення серцевого м'яза в умовах стресового пошкодження з метою вста-

новлення можливої антистресорної активності. Цю сполуку, під умовною назвою "Тетракон", всебічно вивчають у Національному фармацевтичному університеті як потенційний тиреостатичний лікарський засіб.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі застосовували щурів-самців лінії Вістар масою 180-200 г, яких було поділено на три групи: 1-а – група інтактного контролю, 2-а – щури, які підлягали іммобілізаційному стресу шляхом фіксації на спині протягом 30 хв, 3-я – тварини, котрим за 60 хв до іммобілізації перорально через шлунковий зонд вводили досліджуваний препарат "Тетракон" у дозі 10 мг/кг.

Ступінь стресового впливу контролювали за змінами рівня глюкокортикоїдних гормонів у крові та патоморфологічними змінами в надниркових залозах і тимусі. По закінченні експерименту у тварин всіх серій після швидкої декапітації негайно екстирпували серце і поміщали його в рідкий азот. Заморожений міокард лівого шлуночка гомогенізували з 0,4 н розчином хлорної кислоти. Проби центрифугували, в безбілкових екстрактах проводили кількісне визначення концентрації аденілових нуклеотидів, неорганічного фосфору і креатину. Всі процедури виконували при 2 °С.

Вміст АТФ, АДФ і АМФ визначали спектрофотометрично за допомогою наборів реактивів фірми "Boeringer Mannheim" (Німеччина), а неорганічного фосфору – методом [1]. Для вимірювання концентрації креатину в проби для визначення АДФ додатково вносили 4 ОД

© Л.М. Вороніна – д.біол.н., проф., В.М. Кравченко – к.біол.н., 2004.

креатинкінази. Вміст креатину розраховували за калібрувальним графіком. Кількість креатинфосфату визначали в лужних екстрактах проб міокарда. Заморожені зразки серцевого м'яза гомогенізували з 0,3 М розчином карбонату натрію, який містив 25 % етанолу. Безбілкові екстракти вносили в реакційне середовище, що використовувалось для визначення рівня АТФ і містило додатково 4 ОД креатинфосфокінази. Розрахунок вмісту креатинфосфату проводили за калібрувальним графіком.

На основі концентрації досліджуваних показників розраховували величину енергетичного заряду і потенціалу фосфорилування міокарда [8].

Обробку одержаних даних здійснювали варіаційно-статистичним методом з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як свідчать дані, наведені в таблиці 1, формування іммобілізаційного стресу супроводжувалося зменшенням вмісту АТФ, АДФ і сумарних аденілових нуклеотидів, а також достовірним збільшенням концентрації неорганічного фосфору в міокарді, ймовірно, за рахунок розщеплення АТФ. Одночасно із цим виявляли незначну тенденцію до зменшення величини енергетичного заряду й енергетичного потенціалу. Концентрації креатинфосфату та креатину також мали незначну тенденцію до зниження (табл. 2) у групі тварин з контрольною патологією, що, можливо, відбувається за рахунок пригнічення активності ферменту

креатинфосфокінази [6]. Одержані дані відповідають існуючим уявленням про зниження енергетичного забезпечення серця в процесі формування стресового пошкодження міокарда [3, 5, 7].

Уведення досліджуваної сполуки "Тетракон" перед іммобілізацією щурів пригнічувало подальше зменшення рівня АТФ у серці при стресі. У тварин цієї групи відмічались також нормалізація концентрації АДФ, підвищення рівня АМФ, сумарних аденілових нуклеотидів, можливо, за рахунок подальшого збільшення концентрації неорганічного фосфору. Концентрації креатинфосфату і креатину мали тенденцію до подальшого зниження на фоні введення досліджуваної сполуки. Виявлено достовірне зменшення рівня креатину в крові порівняно з групою інтактних тварин. Це можна пояснити відсутністю впливу "Тетракон" на активність ферменту креатинфосфокінази, в результаті чого сповільнюється ресинтез креатинфосфату. Енергетичний потенціал і енергетичний заряд міокарда у цих щурів продовжували зменшуватися, причому достовірно порівняно з показниками групи інтактних тварин.

ВИСНОВКИ. Досліджувана сполука "Тетракон" з вираженою антитиреоїдною дією в наших експериментах практично не сприяла збільшенню рівня енергетичного забезпечення серцевого м'яза при стресі. Специфічний ефект, імовірно, не опосередковувався його впливом на стан енергетичного обміну в тканинах внутрішніх органів, зокрема серцевого м'яза.

Таблиця 1 – **Динаміка показників енергетичного обміну в міокарді щурів зі стресом і при введенні препарату "Тетракон"**

Показники	Групи тварин		
	Інтактний контроль, n=6	Контрольна патологія (стрес), n=6	Патологія+препарат "Тетракон", n=6
АТФ, мкмоль/г	3,2±0,2	2,1±0,3 *	2,3±0,2 *
АДФ, мкмоль/г	1,8±0,1	1,3±0,1 *	1,8±0,1
АМФ, мкмоль/г	0,40±0,05	0,38±0,04	0,50±0,05
Неорганічний фосфор, мкмоль/г	5,2±0,3	6,3±0,3 *	8,3±0,5 *
Сума аденілових нуклеотидів, мкмоль/г	5,4±0,2	3,8±0,4	4,6±0,3
Енергетичний потенціал	0,34±0,02	0,26±0,03	0,15±0,01 *
Енергетичний заряд	0,76±0,01	0,72±0,02	0,69±0,01 *

Примітка. * – зміни достовірні відносно інтактного контролю (p<0,05).

Таблиця 2 – **Вміст креатину і креатинфосфату в міокарді щурів за умов стресу і при введенні препарату "Тетракон"**

Показники	Групи тварин		
	Інтактний контроль, n=6	Контрольна патологія (стрес), n=6	Патологія+препарат "Тетракон", n=6
Креатинфосфат, мкмоль/г	4,4±0,5	3,9±0,3	3,7±0,1
Креатин, мкмоль/г	7,1±1,2	6,1±0,5	5,1±0,8 *

Примітка. * – зміни достовірні відносно інтактного контролю (p<0,05).

ЛІТЕРАТУРА

1. Гончар М.В., Монастырский В.А. Микрометод определения содержания неорганического фосфата в крови // Лаб. дело. – 1982. – № 1. – С. 29-41.
2. Джон Лейкок, Питер Г.Вайс. Основы эндокринологии: Пер. с англ. / Под ред. И.И. Дедова. – М.: Медицина, 2000. – 502 с.
3. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических реакций сердца. – М.: Медицина, 1984. – 270 с.
4. Панченкова Л.А., Трошина Е.А., Юркова Т.Е. и др. Тиреоидный статус и сердечно-сосудистая система // Рос. мед. вести. – 2000. – № 1. – С. 18-25.
5. Сакс В.А., Конорев Е.А., Григорянц Р.А., Беленков Ю.Н. Биохимия нормального и ишемизированного кардиомиоцита: современное состояние исследований // Кардиология. – 1992. – **32**, № 3. – С. 82-91.
6. Сакс В.А., Розенштраух Л.В., Шаров В.Г. Роль креатинкиназных реакций в энергетическом метаболизме сердечных клеток // Метаболизм миокарда. – М.: Медицина, 1979. – С. 215-241.
7. Судаков К.В., Ульянинский Л.С. Нарушение сердечно-сосудистых функций при экспериментальном эмоциональном стрессе // Вестник АМН СССР. – 1980. – **34**, № 11. – С. 37-47.
8. Atkinson D.E., Walton G.M. Adenosine triphosphate conservation in membrane regulation // J. Biol.Chem. – 1967. – **242**, № 13. – P. 3239-3241.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СОЕДИНЕНИЯ С АНТИТИРЕОИДНЫМ ДЕЙСТВИЕМ НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ МИОКАРДА ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ

Л.Н. Воронина, В.Н. Кравченко

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Проведено исследование влияния нового соединения "Тетракон" с выраженным анти тиреоидным действием на энергетическое обеспечение миокарда при иммобилизационном стрессе. Установлено, что препарат в наших экспериментах не способствует увеличению уровня энергообеспечения сердечной мышцы при стрессе, поскольку концентрация АТФ в сравниваемых группах животных под влиянием введенного соединения практически не изменяется. Возможно, специфическое действие препарата не опосредуется его влиянием на состояние энергетического обмена в тканях внутренних органов, в частности сердечной мышцы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: стресс, миокард, энергообеспечение, тиреоидные гормоны, соединение "Тетракон".

INVESTIGATION OF THE INFLUENCE OF THE COMPOUND WITH ANTITHYROID ACTION ON PROVIDING MIOCARDIUM WITH ENERGY UNDER IMMOBILIZING STRESS

L.M. Voronina, V.M. Kravchenko

NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

Summary

Investigation of the influence of the new compound "Tetracon" with strong antithyroid action on providing myocardium with energy under immobilizing stress was carried out. During our experiments it was determined that preparation didn't contribute to increasing the level of the energy supply of myocardium under the stress since the concentration of ATP in comparing groups of animals: with stress and those which received the compound the day before almost didn't change. Probably, the specific action of preparation didn't provide with influence on the state of energetic metabolism in the tissues of internal organs and, in particular, in myocardium.

KEY WORDS: stress, myocardium, energy supply, thyroid hormones, compound "Tetracon".

Отримано 05.04.2004 р.

Адреса для листування: В.М. Кравченко, вул. Ахсарова, 18, кв. 230, Харків, 61202, Україна.

СТАН ГЛУТАТІОНОВОЇ СИСТЕМИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ІНТОКСИКАЦІЇ ЇХ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ ТА ДІЇ ЕКСТРАКТІВ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН

І.М. Яремій

БУКОВИНСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

*Вивчали стан глутатіонової системи печінки щурів за умов інтоксикації їх тетрахлорметаном та сумісної дії екстрактів лікарських рослин (*Arnica montana* L., *Echinacea purpureum* L., *Inula helenium* L., *Rhodiola rosea* L., *Potentilla erecta* L.). Отруєння щурів тетрахлорметаном супроводжувалося зниженням вмісту відновленого глутатіону й активності глутатіонозалежних ферментів у печінці тварин через 24 год після інтоксикації. Введення інтоксикованим тваринам екстрактів лікарських рослин протягом 5 днів до та впродовж усього періоду інтоксикації запобігало порушенню функціонування глутатіонової системи печінки щурів, що свідчить про гепатопротекторні та антиоксидні властивості досліджуваної комбінації екстрактів лікарських рослин.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: глутатіонова система, щури, тетрахлорметан, лікарські рослини.

ВСТУП. На сьогодні в Україні високою є частота захворювання населення на вірусні й так звані хімічні гепатити. Останні виникають внаслідок потрапляння в організм найрізноманітніших ксенобіотиків. Результати численних досліджень [2, 4] свідчать про порушення функціонування глутатіонової системи печінки при її гострому і хронічному ураженні, що сприяють утворенню значної кількості активних форм кисню (АФК) та проявам їх гепатотоксичності. Корекція таких порушень потребує введення в організм антиоксидних засобів.

Метою даного дослідження було вивчення ефективності сумісної дії комбінації екстрактів лікарських рослин (ЕЛР) – *Arnica montana* L., *Echinacea purpureum* L., *Inula helenium* L., *Rhodiola rosea* L., *Potentilla erecta* L. – за умов експериментального токсичного гепатиту.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на білих щурах-самцях масою (180±10) г, яких утримували в стандартних умовах виварію. Тварин поділено на три групи: 1-ша – контроль (інтактні) (n=6); 2-га – щури, інтоксиковані тетрахлорметаном (CCl₄) шляхом дворазового (через день) внутрішньошлункового введення їм 50 % олійного розчину CCl₄ із розрахунку

0,25 мл/100 г маси тіла (n=6); 3-тя – щури, яким протягом 5 днів до та впродовж усього періоду інтоксикації щодоби перорально вводили ЕЛР у дозі 0,01 мл/кг. Тварин декапітували під легким ефірним наркозом через 24 год після останнього введення CCl₄. У пост'ядерному супернатанті гомогенату печінки визначали вміст відновленого глутатіону (ВГ) і активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ), глутатіонредуктази (ГР) [5], глутатіонпероксидази (ГП) [1] і глутатіон-S-трансферази (Г-S-T) [6]. Отримані результати обробляли статистично з використанням параметричного t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Згідно з отриманими результатами (табл. 1), через 24 год після отруєння щурів CCl₄ у печінці останніх на 22 %, порівняно з інтактними тваринами, зменшився вміст ВГ. У печінці інтоксикованих тварин суттєво не змінилася активність ГП, а активність Г-S-T, яка використовує ВГ як кофактор, була на 35,5 % нижчою, ніж у печінці інтактних щурів. Імовірно, при отруєнні тварин CCl₄ відбувалося швидке виснаження резервів ВГ, зумовлене посиленням його застосуванням для знешкодження АФК та порушення регенерації ВГ з окисненої форми, про що

© І.М. Яремій, 2004.

свідчить зменшення у печінці за даних умов інтоксикації активності ферментів Г-6-ФДГ і ГР на 42,3 і 40,4 % відповідно порівняно з інтактними щурами. Можливим є також порушення синтезу ВГ у печінці інтоксикованих CCl_4 щурів. Зниження активності Г-S-T у печінці інтоксикованих тварин може бути пов'язане з виснаженням запасів ВГ на ранніх стадіях отруєння та ймовірною інгібуючою дією на Г-S-T токсичних метаболітів CCl_4 .

У печінці щурів, які отримували CCl_4 і ЕЛР, усі досліджувані показники не відрізнялися від таких у інтактних тварин, що свідчить про антиоксидні та гепатопротекторні властивості даного засобу, які, ймовірно, зумовлені наявністю

у рослинних екстрактах природних антиоксидантів (біофлавоноїди та інші поліфенольні сполуки, сесквітерпени, оксикоричні кислоти тощо) [3, 7].

ВИСНОВКИ. 1. Інтоксикація щурів CCl_4 супроводжується порушенням функціонування захисної глутатионової системи печінки тварин.

2. Сумісна дія екстрактів *Arnica montana* L., *Echinacea purpureum* L., *Inula helenium* L., *Rhodiola rosea* L., *Potentilla erecta* L. відзначається високою ефективністю щодо нормалізації вмісту відновленого глутатіону та активності глутатинозалежних ферментів печінки щурів.

Таблиця 1 – Показники глутатионової системи печінки щурів при інтоксикації їх тетрахлорметаном (CCl_4) та дії екстрактів лікарських рослин (ЕЛР) ($M \pm m$, $n=6$)

Групи тварин	Досліджувані показники (одиниці вимірювання)				
	Глюкозо-6-фосфат-дегідрогеназа, нмоль/хв·мг білка	Глутатіон-редуктаза, нмоль/хв·мг білка	Глутатіон відновлений, мкмоль/г тканини	Глутатіон-пероксидаза, нмоль/хв·мг білка	Глутатіон-S-трансфераза, нмоль/хв·мг білка
Контроль (інтактні) (1-ша)	7,1±1,4	4,1± 0,6	7,9±0,7	164 ±13	54,6±4,1
CCl_4 (2-га)	4,1±0,7*	2,5± 0,9*	6,2±0,5*	181±19	35,3±8,4*
CCl_4 +ЕЛР (3-тя)	6,8 ± 0,5	4,0±0,8	7,5±0,8	174±16	50,7±5,8

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

ЛІТЕРАТУРА

1. Геруш І.В., Мецишен І.Ф. Стан глутатионової системи крові за умов експериментального виразкового ураження гастродуоденальної зони та дії настоянки ехінацеї пурпурової // Вісник проблем біології та медицини. – 1998. – № 7. – С. 10-15.

2. Гонский Я.И., Корда М.М., Клищ И.Н., Фира Л.С. Роль антиоксидантной системы в патогенезе токсического гепатита // Патол. физиология и эксп. терапия. – 1996. – № 2. – С. 43-45.

3. Колесова В.Г., Дадали В.А., Дойко В.И., Марченко В.А. Антиоксидантная терапия растениями // Эфферент. терапия. – 1996. – 2, №1. – С. 67-70.

4. Логинов А.С., Матюшин Б.Н., Ткачев В.Д. Клиническое значение системы глутатиона печени при ее хронических поражениях // Тер. архив. – 1997. – 69, № 2. – С. 25-27.

5. Мецишен И.Ф. Механизм действия четвертичных аммониевых соединений (этония, тиония, додекония и их производных) на обмен веществ в норме и патологии: Дис. ... д-ра биол. наук. – Черновцы, 1991. – 254 с.

6. Habig H.W., Pabst M.J., Jacoby W.B. Glutathione-S-Transferases // J. Biol. Chem. – 1974. – 249, № 22. – P. 7130-7139.

7. Larson R.A. The antioxidants of higher plants // Phytochemistry. – 1988. – 27, № 4. – P. 968-978.

СОСТОЯНИЕ ГЛУТАТИОНОВОЙ СИСТЕМЫ ПЕЧЕНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ИНТОКСИКАЦИИ ИХ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ И ДЕЙСТВИЯ ЭКСТРАКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

И.Н. Яремий

БУКОВИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

Резюме

Изучали состояние глутатионовой системы печени крыс в условиях интоксикации их тетрахлорметаном и совместного действия экстрактов лекарственных растений (*Arnica montana* L., *Echinacea purpureum* L., *Inula helenium* L., *Rhodiola rosea* L., *Potentilla erecta* L.). Отравление крыс тетрахлорметаном сопровождалось снижением содержания восстановленного глутатиона и активности глутатионозависимых ферментов в печени животных через 24 часа после интоксикации. Введение интоксигированным животным экстрактов лекарственных растений в течении 5 дней до и в течении всего периода интоксикации предотвращало нарушение функционирования глутатионовой системы печени крыс, что свидетельствует о гепатопротекторных и антиоксидных свойствах исследуемой комбинации экстрактов лекарственных растений.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: глутатионовая система, крысы, тетрахлорметан, лекарственные растения.

STATE OF GLUTATHIONE SYSTEM OF RAT LIVER IN CONDITIONS OF THEIR INTOXICATION BY TETRACHLORMETHANE AND EFFECT OF EXTRACTS OF MEDICAL PLANTS

I.M. Yaremiy

BUCOVYNIAN STATE MEDICAL ACADEMY

Summary

State of glutathione system in liver of rats in conditions of their intoxication by tetrachlormethane and combined action of extracts of medical plants (*Arnica montana* L., *Echinacea purpureum* L., *Inula helenium* L., *Rhodiola rosea* L., *Potentilla erecta* L.) was studied. Poisoning of rats by tetrachlormethane was accompanied by decreasing the content of reduced glutathione and activity of glutathione-dependent enzymes in the liver of animals 24 hours after intoxication. Using of extracts of medical plants to intoxicated rats within 5 days before and during all term of intoxication prevented the disturbance of functioning of glutathione system of rat liver. That testified about hepatoprotective and antioxidant properties of investigated combination of extractum of medical plants.

KEY WORDS: glutathione system, rats, tetrachlormethane, medical plants.

Отримано 29.04.2004 р.

Адреса для листування: І.М. Яремій, Буковинська державна медична академія, Театральна пл., 2, Чернівці, 58000, Україна.

Для отримання оперативної інформації звертайтеся до нашої сторінки в Інтернеті:
<http://tdma.edu.te.ua>

ВПЛИВ ПОЛІНЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ РОДИН n-3 І n-6 НА СИНТЕЗ БІЛКІВ IN VITRO У ТКАНИНАХ ЩУРІВ ПРИ ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЇ

О.С. Покотило

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

На моделі експериментальної гіперхолестеринемії вивчено in vitro ступінь використання [2-¹⁴C] лізину і [6-¹⁴C] глюкози у синтезі білків у органах і тканинах білих щурів при різному співвідношенні між n-3 і n-6 жирними кислотами в їх раціоні. Підвищена при гіперхолестеринемії інтенсивність синтезу білків з [2-¹⁴C] лізину в головному мозку, печінці й слизовій оболонці тонкої кишки, більшою мірою знижується при додаванні до раціону риб'ячого жиру, ніж соняшникової олії.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: щури, поліненасичені жирні кислоти родини n-3 і n-6, синтез білків, гіперхолестеринемія, риб'ячий жир, лізин, глюкоза.

ВСТУП. Упродовж останніх років у дослідях на лабораторних тваринах інтенсивно вивчають вплив поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) родини n-3 і n-6 на різні сторони обміну речовин в організмі, особливо холестеролу і триацилгліцеролів, з метою поглиблення біохімічних основ атеросклерозу й ожиріння у людини. При цьому основну увагу звертають на дослідження холестериногенезу в різних органах і тканинах та їх зв'язку з атеросклерозом і ішемічним захворюванням серця [2, 8, 10]. У результаті даних досліджень встановлено істотні відмінності у впливі ПНЖК родин n-3 і n-6 на холестериногенез в організмі щурів, зумовлені особливостями їх метаболізму [3, 4, 6, 7, 9]. Дію ПНЖК цих родин на інші ланки обміну речовин в організмі тварин вивчено меншою мірою, а даних про їх вплив на синтез білків у різних органах і тканинах при гіперхолестеринемії ми в літературі не виявили. У зв'язку з цим, метою нашої роботи було дослідження впливу ПНЖК на інтенсивність синтезу білків у різних органах і тканинах щурів при експериментальній гіперхолестеринемії in vitro шляхом інкубації їх зрізів з [2-¹⁴C] лізином із [6-¹⁴C] глюкозою наступним визначенням радіоактивності синтезованих білків.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослід проведено на 5-ти групах білих безпородних щурів-самців живою масою 180-200 г (по 6 тварин у групі). Тварини кожної групи утримувались в окремій клітці й одержували основний раціон, який забезпечував їх потребу в головних елементах живлення згідно з нормою. Щури 1-ї групи становили контроль. До основного раціону твари-

нам 2-5 груп додавали холестерин у кількості 60-70 мг на щура на добу з метою викликання в них гіперхолестеринемії [1]. При цьому до раціону тварин 3-ї групи додавали соняшникову олію (1 мл на щура на добу) як джерело лінолевої кислоти (n-6 ПНЖК); тваринам 4-ї групи – риб'ячий жир (1 мл на щура на добу), як джерело ейкозопентаєнової і докозогексаєнової жирних кислот (n-3 ПНЖК); тваринам 5-ї групи – соняшникову олію і риб'ячий жир у вказаних дозах. Щури одержували дані раціони протягом 7-ми тижнів. Після цього проводили декапітацію тварин під ефірним наркозом. Матеріалом для досліджень були: головний мозок, печінка, тонка кишка, жирова тканина. Гомогенати вказаних тканин у фосфатному буфері Кребса-Рінгера (відношення маси тканини до об'єму буфера – 1:10, рН – 7,4) переносили в інкубаційні посудини, додавали 1 мкКюрі [2-¹⁴C] лізину або [6-¹⁴C] глюкози й інкубували протягом 60 хв при температурі 37 °С, постійно помішуючи (газове середовище – повітря). Після екстрагування ліпідів із гомогенату визначали радіоактивність синтезованих білків на рідинному сцинтиляційному лічильнику "ЛКВ" (Швеція) [5].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. З наведених на рисунку 1 даних видно, що інтенсивність синтезу білків у головному мозку, печінці й слизовій оболонці тонкої кишки щурів при гіперхолестеринемії різко підвищується (p<0,001). Це свідчить про специфічну реакцію тварин на гіперхолестеринемію, в основі якої лежать зміни інтенсивності синтезу білків у вказаних органах.

При підвищенні рівня лінолевої кислоти в раціоні щурів інтенсивність синтезу білків у

головному мозку і слизовій оболонці тонкої кишки достовірно знижується ($p < 0,001$), а в печінці й жировій тканині істотно не змінюється ($p < 0,5$) порівняно з інтенсивністю синтезу білків у цих органах щурів з гіперхолестеринемією, що свідчить про зв'язок між холестеринемією і синтезом білків в організмі тварин та його органно-тканинну специфіку.

Інтенсивність синтезу білків у всіх досліджуваних органах і тканинах щурів, за винятком печінки, при підвищенні вмісту ейкозопентаєнової і докозогексаєнової кислот в їх раціоні була значно нижчою, ніж у тварин з гіперхолестеринемією ($p < 0,05-0,001$). Ці дані свідчать про істотні відмінності у впливі ПНЖК родин n-3 і n-6 на синтез білків в органах і тканинах щурів і про його органно-тканинні особливості.

Вплив на інтенсивність синтезу білків у головному мозку, печінці й слизовій оболонці кишки щурів при одночасному підвищенні в раціоні рівня лінолевої, докозогексаєнової та ейкозопентаєнової кислот близький до дії останніх, тобто ПНЖК родини n-3, що свідчить про їх домінуючий вплив на синтез білків у тканинах тварин при споживанні їх разом із ПНЖК родини n-6.

Загалом одержані результати свідчать про відмінності у впливі ПНЖК родин n-3 і n-6 на синтез білків та його органно-тканинну специфіку.

З наведених на рисунку 2 даних видно, що радіоактивність білків, синтезованих гомогенатами досліджуваних органів і тканин білих щурів з $[6-^{14}\text{C}]$ глюкозою, становить 10-15 % радіоактивності білків, синтезованих зрізами тканин тварин при інкубації їх з $[2-^{14}\text{C}]$ лізином. Це свідчить про те, що разом з екзогенними амінокислотами в синтезі білків у тканинах щурів використовуються також амінокислоти, котрі синтезуються *de novo* з вуглецевого скелета глюкози шляхом переамінування.

Ступінь застосування ендогенних амінокислот у синтезі білків у головному мозку і печінці

білих щурів при експериментальній гіперхолестеринемії приблизно у 2 рази вищий ($p < 0,001$), а в слизовій оболонці – нижчий ($p < 0,001$) порівняно з їх використанням у цих тканинах тварин контрольної групи.

Високий ступінь застосування амінокислот, що утворюються *de novo* з вуглецевого скелета глюкози в головному мозку і печінці тварин з гіперхолестеринемією, спостерігається також при додаванні до раціону соняшникової олії, тоді як при додаванні риб'ячого жиру має місце протилежний за напрямком вплив на їх використання в синтезі білків.

Радіоактивність білків при інкубації головного мозку, печінки і слизової оболонки тонкої кишки щурів 5-ї групи, до раціону яких додавали соняшкову олію і риб'ячий жир, займає проміжне положення між радіоактивністю білків у цих тканинах тварин 3-ї і 4-ї груп, до раціону яких додавали, відповідно, соняшкову олію і риб'ячий жир, що свідчить про домінуючий вплив ейкозопентаєнової і докозогексаєнової кислот на синтез білків.

ВИСНОВКИ. 1. Інтенсивність синтезу білків у головному мозку, печінці й слизовій оболонці тонкої кишки білих щурів при експериментальній гіперхолестеринемії *in vitro* при використанні як маркера $[2-^{14}\text{C}]$ лізину приблизно у 2 рази вища, ніж у контрольних, клінічно здорових тварин.

2. Інтенсивність синтезу білків *in vitro* у вказаних органах білих щурів з експериментальною гіперхолестеринемією при додаванні до раціону риб'ячого жиру окремо або із соняшковою олією знижується більшою мірою, ніж при додаванні соняшникової олії окремо.

3. Відмінності у ступені використання амінокислот, синтезованих *de novo* з вуглецевого скелета $[6-^{14}\text{C}]$ глюкози, у синтезі білків у тканинах щурів з гіперхолестеринемією і при додаванні до раціону соняшникової олії та риб'ячого жиру подібні до застосування $[2-^{14}\text{C}]$ лізину.

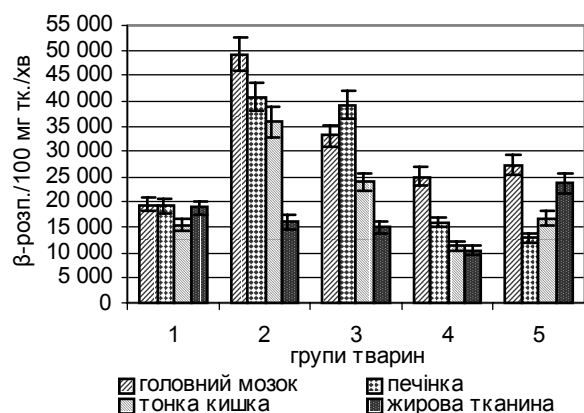


Рис. 1. Радіоактивність білків (β -розп./100 мг сирогої тк./хв), синтезованих зрізами досліджуваних органів і тканин щурів при інкубації з $[2-^{14}\text{C}]$ лізином (n-6).

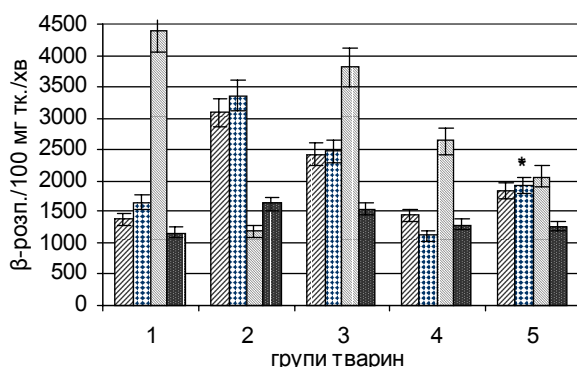


Рис. 2. Радіоактивність білків (β -розп./100 мг сирогої тк./хв), синтезованих зрізами досліджуваних органів і тканин щурів при інкубації з $[6-^{14}\text{C}]$ глюкозою (n-6).

ЛІТЕРАТУРА

1. Гончарова Н.А., Малая Л.Т., Бобров В.А. и др. Методические рекомендации по изучению гиполлипидемических и противоатеросклеротических средств. – К.: Фармакологический комитет МЗ Украины, 1996. – 28 с.
2. Губский Ю.И., Левицкий Е.Л., Примак Р.Т. Конформаційні характеристики й натування ендогенних ліпідів фракцій транскрипційно активного й репресованого хроматину // Укр. біохім. журн. – 1994. – **63**, № 2. – С. 83-89.
3. Покотило О.С. Вплив риб'ячого жиру і соняшникової олії при додаванні їх до раціону щурів з експериментальною гіперхолестеринемією на вміст холестерину і триацилгліцеролів у плазмі крові // Біологія тварин. – 2003, – **5**, № 1-2. – С. 118-121.
4. Покотило О.С., Козак Д.В. Жирнокислотний склад ліпідів крові щурів при гіперхолестеринемії і його корекція ω -3 і ω -6 поліненасиченими жирними кислотами // Здобутки клініч. і експерим. медицини. – 2003. – № 2. – С. 40-44.
5. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований. – Л.: Изд-во ЛГУ. – 1982. – 222 с.
6. Davis H.R., Bridenstine R.T., Vesselinovitsh D. et al. Fish oil inhibits development of atherosclerosis in rhesus monkeys // *Arteriosclerosis*. – 1987. – **7**. – P. 441-449.
7. Hrelia S.L., Jimenez B., Bordoni A. et al. Essential fatty acid metabolism in cultured rat cardiomyocytes in response to either N-6 or N-3 fatty acid supplementation // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1995. – **216**, № 1. – P. 9-11.
8. Kogteva G.S., Bezuglov V.V. Unsaturated Fatty Acids as Endogenous Bioregulators // *Biochemistry*. – Moscow. – 1998. – **63**, № 1. – P. 6-15.
9. Laidlaw M., Holub B.J. Effects of supplementation with fish oil-derived n-3 fatty acids and linolenic acid on circulating plasma lipids and fatty acid profiles in women 1,2,3 // *Amer. J. Clin. Nutr.* – 2003. – **77**, № 1. – P. 37-42.
10. Renaud S. *Cardiovascular Diseases and Nutrition* // *JNHA*. – 2001. – **5**, № 3. – P. 823-827.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ СЕМЕЙСТВ n-3 И n-6 НА СИНТЕЗ БЕЛКОВ IN VITRO В ТКАНЯХ КРЫС ПРИ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ

О.С. Покотило

ТЕРНОПОЛЬСЬКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Резюме

На модели экспериментальной гиперхолестеринемии изучено *in vitro* степень использования [2-¹⁴C] лизина и [6-¹⁴C] глюкозы в синтезе белков в органах и тканях белых крыс при разном соотношении между n-3 и n-6 жирными кислотами в их рационе. Повышенная при гиперхолестеринемии интенсивность синтеза белков из [2-¹⁴C] лизина в головном мозге, печени и слизистой оболочке тонкой кишки большей степенью снижается при добавлении в рацион рыбьего жира, нежели подсолнечного масла.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: крысы, полиненасыщенные жирные кислоты семейств n-3 и n-6, синтез белков, гиперхолестеринемия, рыбий жир, лизин, глюкоза.

INFLUENCE OF POLYUNSATURATED FATTY ACIDS OF FAMILY n-3 AND n-6 ON PROTEIN SYNTHESIS IN VITRO IN TISSUES OF RATS AT HYPERCHOLESTEROLEMIA

O.S. Pokotylo

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

On the model of experimental hypercholesterolemia it has been investigated *in vitro* a degree of use [2-¹⁴C] lysine and [6-¹⁴C] glucose in protein synthesis in tissues and organs of white rats at different ratio between n-3 and n-6 fatty acids in their diet. Increased at hypercholesterolemia intensity of protein synthesis from [2-¹⁴C] lysine in the cerebrum, liver and mucous of small intestine, is more reduced at the addition into their diet fish oil than sunflower oil.

KEY WORDS: rats, polyunsaturated fatty acids of n-3 and n-6 families, synthesis of proteins, hypercholesterolemia, fish oil, glucose.

Отримано 14.04.2004 р.

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

ПОРУШЕННЯ ПРОЦЕСІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА ОКИСНЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ У НИРКАХ І КРОВІ ПРИ ОТРУЄННІ БЛІДОЮ ПОГАНКОЮ

О.М. Сопель

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Вивчено стан перекисного окиснення ліпідів та рівень окиснювальної модифікації білків у нирках і крові щурів при отруєнні блідою поганкою. Відмічено однаправленість змін показників вільно-радикального окиснення ліпідів з показниками окиснювальної модифікації білків. Найбільша активність обох процесів спостерігалась на 24 годину отруєння.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: аманіта-фалоїдиновий токсин, отрута блідої поганки, перекисне окиснення ліпідів, окиснювальна модифікація білків.

ВСТУП. Проблема гострих отруєнь шапинкоподібними грибами не втрачає своєї актуальності донині. Це зумовлено зростанням в останні роки кількості осіб, які отруїлися блідою поганкою [1], а також тяжкістю перебігу захворювання. Аманіта-фалоїдиновий токсин зараховано до надзвичайно токсичних отрут [1], він спричиняє глибокі порушення гомеостазу. Однією з причин цих змін можуть бути порушення процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у мембранах клітин. Окрім того, згідно з даними літератури, у біологічних системах постійно утворюються продукти одностороннього відновленого кисню, так звані активні форми кисню [6]. Під дією різних несприятливих факторів на організм їх рівень змінюється і вони можуть спричиняти окиснювальну деструкцію не тільки ліпідів, а й білків. Не вивчено ці процеси в нирках при отруєнні блідою поганкою.

Метою роботи було з'ясувати роль ПОЛ та окиснювальної модифікації білків (ОМБ) у механізмах нефротоксичності при отруєнні щурів токсином блідої поганки.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експериментальні дослідження проводили на 48 нелінійних білих щурах-самцях масою 160-200 г. Отруєння тварин здійснювали шляхом одноразового внутрішньоочеревиного введення екстракту блідої поганки в дозі LD₅₀. Евтаназію щурів проводили шляхом декапітації їх під тіопенталовим наркозом з подальшим вилученням нирок та забором крові. Дослідження проводили на 6, 24 та 72 години отруєння. У плазмі крові й гомогенаті нирок визначали вміст

© О.М. Сопель, 2004.

дієнових кон'югатів (ДК) [2], малонового діальдегіду (МДА) [7], активність супероксиддисмутази (СОД) [8], каталази (КТ) [3], глутатіопероксидази (ГП) [4]; вміст відновленого глутатіону (ВГ) [9] і ступінь ОМБ досліджували в плазмі крові [6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Для оцінки стану ПОЛ визначали вміст МДА і ДК та активність ключових ферментів антиоксидної системи.

З отриманих нами даних, що наведені в таблиці 1, видно, що після введення щурам аманіта-фалоїдинового токсину інтенсивність ПОЛ зростала як у крові, так і в нирках. Причому значне підвищення концентрації ДК спостерігалось в усі терміни дослідження. Максимальні зміни цього показника в нирках було зафіксовано на 24 годину – вони перевищували величини інтактних щурів на 118,3 %, на 6 годину – на 92,2 %, а на 72 годину – на 81,7 %. Зміни концентрації ДК спостерігалися також і в крові, зокрема на 24 годину величини їх зростали на 169,6 %, на 6 годину – на 153,3 %, на 72 годину – на 144,2 %.

Введення щурам отрути блідої поганки зумовлювало істотне підвищення рівня МДА в нирках та крові уражених тварин. Так, на 6 годину експерименту вміст МДА в нирках зріс на 168,0 %, на 24 годину – на 197,3 %, на 72 годину – на 97,3 % порівняно з інтактними щурами. У плазмі крові спостерігалися зміни такого ж спрямування, тобто на 6 годину він підвищився на 66,4 %, на 24 годину – на 81,1 %, на 72 годину – на 51,6 %. Таким чином, отрута блідої поганки призводить до інтенсифікації процесів перекисного окиснення ліпідів в нирках та крові.

Проведені нами наступні дослідження показали, що під впливом аманіта-фалюїдинового токсину в крові й нирках щурів значно знижується активність ферментів антиоксидної системи.

Із наведених у таблиці 1 даних видно, що активність СОД у нирках щурів, уражених отрутою блідої поганки, знижувалась і становила на 6 годину 48,3 %, на 24 годину – 15,5 %, на 72 годину – 22,4 % порівняно з контрольними тваринами. У крові отруєних щурів активність СОД на 6 годину становила 48,6 %, на 24 годину – 20,3 %, на 74 годину – 32,4 % від рівня інтактних. Токсичне ураження організму призводило також до зменшення активності в крові КТ-ферменту, що руйнує пероксид водню. Уже на 6 годину після отруєння каталазна активність значно знижувалась і становила 33,7 % від норми. Далі вона продовжувала зменшуватись і на 24 годину складала 27,2 % від рівня здорових тварин, а на 72 годину дещо підвищилась і сягала 32,5 % від норми. У нирках активність КТ в усі періоди експерименту була на низькому рівні. Найбільш значне зменшення її активності спостерігалось на 24 годину після введення отрути, вона становила лише 43,2 % від норми. Разом із тим, зниження активності КТ відмічалось також на 6 і 72 години (відповідно, 48,0 та 46,6 % від рівня інтактних). Під впливом аманіта-фалюїдину в нирках та крові тварин суттєво зменшувались, порівняно з нормою, вміст ВГ та активність ГП. Зокрема, зниження активності ГП у нирках уражених щурів відмічалось вже на 6 годину, і становила вона 52,9 % від рівня інтактних, на 24 годину – 39,9 %, а на 72 годину була на рівні 45,6 %. У крові активність ГП складала, відповідно, 37,9, 24,1, 34,5 %. Вміст ВГ у нирках отруєних тварин знижувався не так різко і становив на 6 годину 76,3 %, на 24 годину – 72,9 % і на 72 годину – 71,3 % від норми.

Продукти ПОЛ мають здатність утворювати ковалентні зв'язки з аміногрупами білків і тим самим додатково втягувати їх у процеси окиснення.

Ступінь ОМБ у наших дослідженнях оцінювали за вмістом альдегідо- та кетонпохідних білків нейтрального й основного характеру.

Згідно з отриманими нами даними, при дії отрути блідої поганки в плазмі крові уражених тварин вміст окиснених білків зростає. Так, рівень альдегідо- і кетонпохідних нейтрального характеру (ОМБ370) збільшився на 6 годину отруєння в 1,4 раза в порівняно з контролем, на 24 годину – в 1,44 раза і на 72 годину – в 1,36 раза. Водночас вміст альдегідо- і кетонпохідних основного характеру (ОМБ430) підвищився, порівняно з контролем, на 6 годину в 1,17 раза, на 24 годину – в 1,21 раза, на 72 годину – в 1,18 раза.

При порівнюванні показників вільнорадикального окиснення ліпідів з показниками окиснювальної модифікації білків (рис. 1) спостерігалась пряма залежність між ДК і ОМБ370 та МДА і ОМБ430 в усі години дослідження, що свідчить про взаємозалежність цих двох процесів у перебізі патологічного процесу.

Причиною зростання концентрації окиснено модифікованих білків у плазмі крові тварин, отруєних токсином блідої поганки, може бути зниження активності системи антиоксидантного захисту, особливо ферментів першого ряду, які здатні знешкодувати активні форми кисню, котрі і є безпосередньою причиною пероксидного окиснення білків.

Нами зафіксовано різке зниження у нирках активності СОД – основного антиоксидантного ферменту клітини, який каталізує реакцію дисмутації супероксиданого радикала і блокує ланцюг перекисного окислення ще на стадії ініціації. Однею з основних причин зниження

Таблиця 1 – Динаміка змін ПОЛ та антиоксидної системи у нирках та плазмі крові щурів при отруєнні блідою поганкою ($M \pm m$, $n=6$)

Показник	Інтактні щури	Групи уражених тварин			
		Термін після отруєння, год			
		6	24	72	
ДК, $\times 10^3$ од./кг л	плазма	0,92 \pm 0,08	3,25 \pm 0,22*	3,40 \pm 0,16*	3,17 \pm 0,32*
	нирки	2,44 \pm 0,15	7,13 \pm 0,63*	7,75 \pm 0,58*	6,87 \pm 0,61*
МДА, мкмоль/л (кг)	плазма	1,74 \pm 0,21	4,63 \pm 0,23*	4,89 \pm 0,15*	4,37 \pm 0,16*
	нирки	2,09 \pm 0,23	7,71 \pm 0,48*	8,32 \pm 0,59*	7,23 \pm 0,43*
СОД, ум. од./мл	кров	0,074 \pm 0,070	0,036 \pm 0,002*	0,015 \pm 0,001*	0,024 \pm 0,002*
	нирки	0,58 \pm 0,03	0,28 \pm 0,03*	0,09 \pm 0,01*	0,13 \pm 0,01*
КТ, мкат/кг	кров	1,69 \pm 0,06	0,57 \pm 0,03*	0,46 \pm 0,03*	0,55 \pm 0,02*
	нирки	4,42 \pm 0,07	2,12 \pm 0,03*	1,91 \pm 0,01*	2,06 \pm 0,02*
ГП, ммоль ГSH/хв кг (л)	кров	0,580 \pm 0,003	0,22 \pm 0,03*	0,14 \pm 0,01*	0,20 \pm 0,01*
	нирки	26,65 \pm 0,46	14,12 \pm 0,37*	10,67 \pm 0,46*	12,17 \pm 0,48*
ВГ, ммоль/кг	кров	2,19 \pm 0,08	1,32 \pm 0,05*	1,26 \pm 0,05*	1,22 \pm 0,04*
	нирки	3,17 \pm 0,08	2,42 \pm 0,07*	2,31 \pm 0,05*	2,26 \pm 0,04*

Примітка. * – достовірність порівняно з контролем ($p < 0,001$).

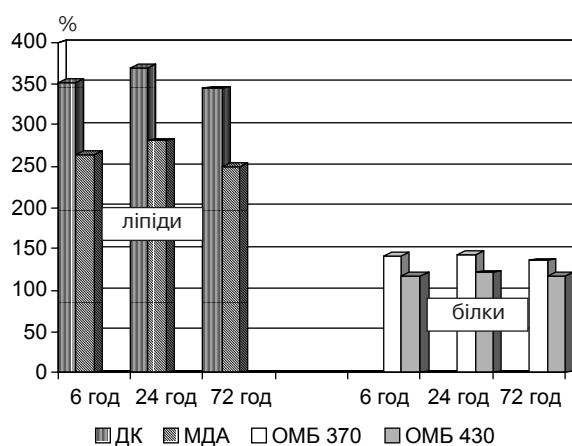


Рис. 1. Динаміка змін вільнорадикального окиснення ліпідів та білків у плазмі крові щурів, уражених отрутою блідої поганки (за 100 % взято показники ПОЛ та ОМБ в інтактних тварин).

активності СОД вважають різке пригнічення процесів транскрипції і трансляції в клітинах під впливом токсину. Крім цього, інгібування активності супероксиддисмутази може бути викликане надмірним збільшенням у клітині концентрації супероксидного аніон-радикалу, перекису водню, синглетного кисню, гідроксильних радикалів, гідроперекисів, що призводить до незворотного відновлення міді в активному центрі ферменту або ж окислення в ньому деяких функціональних груп, зокрема тіолових. У нашому випадку, різке зниження активності СОД у нирках щурів може також відбуватися за рахунок посиленого витрачання її на нейтралізацію великої кількості супероксидного аніон-радикалу. Про тісний взаємозв'язок між вмістом АФК і активністю СОД свідчать коефіцієнти кореляції ($r = -0,71$ та $r = -0,74$), отримані нами при аналізі показників ОМБ нейтрального та основного характеру і активності СОД на 24 год, коли найбільший вміст окисненомодифікованих білків співпадав з найнижчою активністю ферменту. Таку ж зворотню залежність виявлено між інтенсивністю ПОЛ, а саме вмістом МДА, активністю супероксиддисмутази, при цьому коефіцієнт кореляції становив $r = -0,74$.

Звертає на себе увагу співвідношення змін показників СОД і ЦП у крові отруєних блідою поганкою тварин. Обидва ці ферменти містять в своєму складі мідь та дисмутують супероксиданіонрадикал. Однак СОД є інтра-, а ЦП екстрацелюлярним ферментом. При аманіта-фаллоїдиновій інтоксикації нами виявлено зростання вмісту в 1,6 рази цього металовмісного ферменту. Можливо, що підвищення рівня ЦП на фоні зниження активності СОД обумовлено компенсаторно-захисною реакцією організму.

Ще одним ферментом, який відносять до першої ланки АОС, що направлена на знешко-

дження і утилізацію активних форм кисню є каталаза, яка каталізує реакцію розкладання пероксиду водню до води. В результаті проведених нами досліджень виявлено, що під впливом аманіта-фаллоїдинового токсину активність КТ в нирках та крові знижується в усі терміни експерименту. Відомо, що найбільша кількість ферменту знаходиться в еритроцитах, печінці та нирках і в клітинах він зосереджений в основному в пероксисомах. Так як під дією отрути блідої поганки може бути деградація як вільних, так і зв'язаних з мембранами ендоплазматичної сітки рибосом, які відповідають за утворення ферменту, то це може бути однією з причин зниження активності КТ в нирках при аманіта-фаллоїдиновій інтоксикації. Крім цього, як і інші металопротеїни, вона може піддаватися окислювальній модифікації АФК. Якщо порівняти показники ОМБ та активність каталази, то можна виявити між ними зворотну залежність (для альдегідо- та кетоніохідних основного характеру $r = -0,77$), що може свідчити про важливу роль цього процесу у зниженні ферментативної активності КТ.

Ще однією важливою ланкою захисту клітин від переокиснення є глутатионова система. Введення тваринам екстракту блідої поганки призводило до зниження в нирках та крові активності ферментного компоненту – глутатіонпероксидази і неферментного – відновленого глутатіону. При цьому вміст ВГ у нирках та крові отруєних тварин знижувався дещо в меншому ступені, ніж активність ГП. Наші дані співпадають з даними про зниження активності глутатионової системи при токсичних ураженнях нирок. ГП знешкоджує H_2O_2 у цитозолі та мітохондріях. Головну причину пригнічення активності ГП за токсичного ураження організму деякі дослідники бачать у деструктивному порушенні мембран ендоплазматичної сітки і рибосом, що призводить до пригнічення синтезу ферменту.

Таким чином, підсумовуючи вищевказані дані, можна стверджувати, що важливу роль у патогенезі ураження нирок природним аманіта-фаллоїдиновим токсином відіграють зміни з боку антиоксидантної системи.

ВИСНОВКИ. 1. Аманіта-фаллоїдинова отрута блідої поганки пригнічує ферментні системи антиоксидантного захисту, дестабілізує вільнорадикальні процеси в організмі та призводить до інтенсифікації процесів ПОЛ як у нирках, так і в плазмі крові. При цьому максимальної концентрації первинні й проміжні продукти ПОЛ в уражених тварин досягають на 24 годину експерименту.

2. Внаслідок активації вільнорадикальних процесів у плазмі крові тварин, отруєних токсином блідої поганки, зростає концентра-

ція окисномодифікованих білків з подальшим зниженням активності системи антиоксидного захисту, особливо ферментів першого ряду, які здатні знешкоджувати активні форми кисню.

3. При зіставленні показників ПОЛ з показниками ОМБ простежується одна і та ж

спрямованість змін: максимальній активності перекисного окиснення ліпідів на 24 годину відповідає найвищий вміст окиснених білків. Це свідчить про взаємозалежність двох процесів – вільнорадикального окиснення ліпідів та ОМБ – у перебізі патологічного процесу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бабенко О.В., Авхименко М.М., Агапов В.И. Отравления грибами: вопросы диагностики и лечения // Мед. помощь. – 2002. – № 4. – С. 25-27.

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

3. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-18.

4. Кругликов Г.О., Штурман Ц.М. Визначення глутатіонпероксидазної активності // Укр. біохім. журн. – 1976. – 68, № 2. – С. 223-228.

5. Мещишен І.Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // Буковин. мед. вісн. – 1998. – 2, № 1. – С. 156-158.

6. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Современные методы в биохимии – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.

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

8. Elman G.I. Tissue sulfhydryl group // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – № 83. – P. 70-77.

НАРУШЕНИЯ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ В ПОЧКАХ И КРОВИ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ БЛЕДНОЙ ПОГАНКОЙ

О.М. Сопель

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Изучено состояние перекисного окисления липидов и уровень окислительной модификации белков в почках и крови крыс при отравлении бледной поганкой. Отмечено однонаправленность изменений показателей свободнорадикального окисления липидов с показателями окислительной модификации белков. Наибольшая активность обеих процессов наблюдалась через 24 часа после отравления.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **аманита-фаллоидиновый токсин, яд бледной поганки, перекисное окисление липидов, окислительная модификация белков.**

ALTERATIONS OF LIPID PEROXIDATION AND PROTEIN OXIDATIVE MODIFICATION PROCESSES IN KIDNEYS AND BLOOD AT AMANITA-PHALLOIDES INTOXICATION

O.M. Sopol

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

It was studied the state of lipid peroxidation and the level of oxidative modification of proteins in kidneys and blood of amanita-phalloides intoxicated white rats. Similar changes of free-radical lipid peroxidation and protein oxidative modification indices were determined. The highest effectiveness of both processes was observed at the 24 hour after intoxication.

KEY WORDS: **amanita-phalloides toxin, toadstool toxine, lipid peroxidation, protein oxidative modification.**

Отримано 18.03.2004 р.

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

ШЛЯХИ ТРАНСПОРТУВАННЯ ЛІТІУ В КЛІТИНАХ ССАВЦІВ

А.В. Шкаволяк, І.Й. Влох

ЛЬВІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

У цьому огляді зібрано інформацію про овабаїнонечутливий транспорт моновалентних іонів крізь клітинну мембрану. Метою даного дослідження було: 1) встановити відмінності в природі Na/Li-протитранспортних систем в еритроцитах людини в нормі, а також при есенціальній та нирковій гіпертензії, діабеті, нефропатії, різних формах гіперліпопротеїнемії, ендогенних психозах, інших іонних мембранопатіях; 2) порівняти способи здійснення транспорту Li⁺, гормональний контроль, модуляцію та регуляцію кінетичної взаємодії між літієм та іншими моновалентними іонами, залежність від іонного складу позаклітинного середовища, рН, впливу об'єму клітин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: овабаїнонечутливий транспорт, літій, натрій, водень, іонні мембранопатії.

Плазматична мембрана еритроцитів людини та деяких видів тварин містить такі основні іонні транспортери, функціонування яких забезпечує підтримання концентрації моновалентних іонів у межах фізіологічного діапазону: а) овабаїнонечутливу Na-помпу, яка активно транспортує Na⁺ у зовнішньому та K⁺ – у внутрішньому напрямках; б) діуретикочутливі Na, K та Na, K, Cl-котранспортери, які переносять внутрішньоклітинний Na⁺ в позаклітинне середовище, використовуючи електрохімічну енергію K-градієнта; в) Na/H-обмін – пригнічувану амilorидом компоненту протиградієнтного транспорту Na⁺; г) Na/Na-обмін – пригнічувану флоретинном компоненту амilorидочутливого транспорту Na⁺. Крім того, моновалентні іони дифундують через іонні канали відповідно до їх концентраційного градієнта [9, 12, 19, 32, 33, 53, 59].

Велика роль в дослідженні процесів трансмембранного переносу моновалентних іонів належить овабаїну (строфантину G), що гальмує активність натрієвої помпи. Однак існує певна концентрація вказаного інгібітора, яка зумовлює максимальне пригнічення ферментативної активності та іонного обміну: $5 \cdot 10^{-5}$ – $5 \cdot 10^{-4}$ М, а 8–40 % потоку Na⁺ залишаються овабаїнорезистентними [6, 11, 47, 52]. Завдяки функціонуванню овабаїнорезистентних механізмів потоки неорганічних елементів рухаються в одному напрямку (котранспорт) або різновекторно (протитранспорт). До останніх відносять Na/H-, Na/Na-, Na/Li-, Cl/HCO₃-обміни. Ці категорії іонотранспортних систем можна

© А.В. Шкаволяк, І.Й. Влох – д.мед.н., проф., 2004.

розділити, застосовуючи різноманітні фармакологічні середники, що чинять гальмівну дію на зазначені транспортери [16, 37, 42, 45, 73].

Іони Li⁺ можуть транспортуватись будь-яким із вказаних шляхів, заміщуючи Na⁺ або K⁺ [64]. Однак в межах фізіологічних концентрацій електролітів, коли рН тканин становить 7,3–7,4, стабільність розподілу Li⁺ з обох боків плазматичної мембрани залежить від інтенсивності пасивного потоку та протиградієнтної локації цього іона [15, 19, 68, 70].

Дослідженнями механізмів транспорту Li⁺ підтверджено, що декілька систем можуть опосередковувати його перенос через плазматичну мембрану. За присутності овабаїну Li⁺ здатен транспортуватись за посередництвом флоретиночутливої Na⁺/Li⁺-протитранспортної системи і, як іон в Li₂CO₃, переміщуватись аніонообмінним DIDS-чутливим шляхом, а також, можливо, холінообмінною системою. Надходження Li⁺ в клітини здійснюється за допомогою двох механізмів: переважно шляхом дифузії вниз відносно його градієнта і, меншою мірою, через бікарбонаточутливий аніонний транспортний шлях. Приблизно 75 % виходу Li⁺ відбувається за посередництвом Na/Na-протитранспортного механізму, а залишкова фракція Li⁺ транспортується натрієвою помпою [9, 18, 26, 50, 62].

Зміни архітекtonіки та кінетичних властивостей овабаїнорезистентних систем іонного транспорту є надзвичайно важливою ланкою патогенезу низки захворювань, які відносять до категорії "іонні мембранопатії". Спільною рисою останніх є те, що функції різноманітних

мембранозв'язаних механізмів набувають не властивих для фізіологічному стану характеристик. Як результат, стають можливими перерозподіл одно- та двовалентних іонів з обох сторін плазматичної мембрани, вирівнювання іонних концентрацій, зменшення електрохімічних потенціалів, що, в свою чергу, зумовлює пригнічення процесів енергоутворення, які повинні забезпечувати рушійні сили іонного транспорту. Оскільки за вказаних патологічних станів еритроцити відрізняються від таких у здорових осіб, в основному за проникністю їх плазматичної мембрани для Na^+ , різноманітні параметри транслокації вказаного іона широко досліджують як незалежні варіанти при іонних мембранопатіях [6, 7, 8, 10, 13].

З того часу як в 1980 р. було встановлено генетичну детермінованість збільшення швидкості Na/Li -протитранспорту при есенціальній гіпертензії [27], ці спостереження підкріплено багатьма випадками та асоціаціями з іншими захворюваннями. Можливість розвитку таких явищ зареєстровано при діабеті [22, 31, 34, 41, 44, 57, 60, 67, 75], дисліпідеміях [5, 30, 66], нефропатіях [38, 48, 65], ендогенних психозах [1, 2, 8], хронічному алкоголізмі [7, 10]. Протягом останніх років об'єктом прицільного наукового інтересу є механізми Na/H - та Na/Li -протитранспорту. Вивчення типів порушень вказаних Na -транспортних систем, їх зіставлення з іншими фізіологічними характеристиками клітин та кінетичними особливостями можуть мати вирішальне значення в з'ясуванні конкретних варіантів захворювання та полегшити опрацювання методів лікування, що забезпечують необхідний профіль біологічної та лікувальної дії.

Зростає кількість доказів, що поряд з іоно-транспортувальними механізмами, які функціонують в еритроцитах постійно, існують системи змінної дії. Протягом певного часу останні перебувають у латентному стані або проявляють незначну активність, однак за наявності відповідних стимулів (наприклад, зміни іонограми крові, присутність трансмітерів, гормональні впливи) починають діяти [14, 25, 33, 55]. Перш за все сказане стосується механізмів, здатних забезпечити регуляцію рН клітин та контроль за їх об'ємом [33].

Про особливості взаємодії іонів Na^+ та Li^+ можна судити за результатами визначення швидкості стимульованого внутрішньоклітинним Na^+ виходу Li^+ , стимульованого внутрішньоклітинним Li^+ виходу Na^+ , стимульованого зовнішньоклітинним Li^+ виходу Na^+ [8, 17, 23, 26].

При дослідженні кінетики скерованого назовні потоку Na^+ , стимульованого позаклітинним Li^+ , одержано свідчення, що цей потік є функ-

цією концентрації позаклітинного Na^+ . Лінійність цієї функції позначається як стимуляція Міхаеліса. Встановлено також, що позаклітинний Li^+ збільшує константу дисоціації внутрішньоклітинного Na^+ [23].

Щоб виключити вплив на іонотранспортувальний процес випадкових факторів, концентрацію внутрішньоклітинного Li^+ вимірювали протягом усього періоду інкубації еритроцитів, а також обчислювали константу пригнічення виходу Na^+ [26]. Одержані за таких умов результати свідчили про те, що достовірно пригнічення іонного потоку спостерігається лише в клітинах зі зменшеною концентрацією Na^+ або при інкубації клітин в збалансованому літєм середовищі. Важливо, що величина V_{max} відповідає обертові внутрішньоклітинного Na^+ і не проявляє залежності від позаклітинного Li^+ [23, 28]. Однак аналіз опублікованих результатів, одержаних в окремих лабораторіях за різних експериментальних умов, є ускладненим.

Зареєстровано дані, які підтвердили, що навіть в практично здорових осіб велика швидкість Na/Li -протитранспорту зустрічається приблизно в 40 % випадків, хоча в цілому зміни перебувають у межах, характерних для великих популяцій [3, 44, 53, 71]. Крім того, рівень аналізованих показників істотно залежить від терміну забору крові – опівдні швидкість Na/Li -протитранспорту є істотно більшою, ніж зранку. Цей показник, виміряний в субфракціях молодих, середніх та старих еритроцитів, відрізняється дуже істотно [24]. Величина швидкості Na/Li -протитранспорту в еритроцитах жінок може розглядатися як незалежний біологічний фактор ризику розвитку артеріальної гіпертензії, а правомірність такого висновку для чоловіків потребує додаткового дослідження [77]. При інтерпретації слід враховувати наведені вище розмаїття Li -транспортувальних систем.

Існує також велика ймовірність того, що збурення Na/Li -протитранспорту в еритроцитах можуть виявитись складними для реєстрації внаслідок наступних обставин. Овабаїночутлива Na^+, K^+ -АТФаза здатна переносити Li^+ у внутрішньоклітинний простір і забезпечувати активний вихід Na^+ в зовнішньому напрямку за умови відсутності конкурентного ефекту позаклітинного K^+ [9]. З внутрішньої сторони Li^+ може транспортуватись в зовнішньому напрямку і забезпечувати надходження K^+ за відсутності зовнішньоклітинного Na^+ [41]. Показано, що Li^+ може заміщати Na^+ в овабаїночутливій Na^+ -обмінній системі, яка має вищу спорідненість з Li^+ , ніж з Na^+ , а також значні міжіндивідуальні відмінності стосовно мак-

симальної активності транспорту [65, 93]. Існування функціонально відмінних Li-транспортувальних систем потрібно враховувати при оцінці результатів вимірювання кінетичних параметрів Na/Li-обміну, оскільки однозначність відповіді щодо наявності чи відсутності модуляцій в процесах іонного транспорту може бути доведена лише при здійсненні багатофакторного аналізу.

Переконливо показано, що гіперосмотичне стискання неепітеліальних та епітеліальних клітин має здатність викликати активацію Na^+/H^+ -обміну, що іноді функціонально поєднуються з $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -обміном [11, 33, 40, 50]. Подібне спряження здійснюється через зміни концентрації протонів та аніонів бікарбонату в цитоплазмі. Їх результатом є надходження в клітину Cl^- за одночасної транслокації у внутрішньому напрямку Na^+ , що забезпечує можливість регуляторного збільшення клітинного об'єму [63]. Na^+/Li^+ -протитранспорт як компонента Na^+/H^+ -обміну також регулюється не лише різними клітинними чинниками, такими, як гормони [14, 71], але й механічними стимулами, зокрема осмотичним стресом [23, 33, 49]. Оскільки Na/Li-протитранспорт відносно однозначний щодо кінетичних показників і не потребує метаболічної енергії (наприклад, гідролізу АТФ), він є доброю моделлю для розуміння загальних механізмів іонного транспорту.

Еритроцитний Na/Li-протитранспорт найбільш інтенсивно вивчали у хворих з есенціальною гіпертензією [17, 27, 35, 39]. Численними епідеміологічними дослідженнями дано чітку характеристику феномена зростання швидкості цього обміну за вказаного захворювання. Дані спостереження було підкріплено багатьма випадками, поєднаними також з іншими захворюваннями, перш за все, з діабетом [54, 61]. Для пацієнтів з посиленою активністю названого антипорту характерними є високий рівень загального обмінного Na^+ [74], ниркова і серцева гіпертонія та специфічні метаболічні відхилення, одним з яких є синдром резистентності до інсуліностимульованої толерантності до глюкози [46, 60]. Одночасні поєднання гіпертензії з резистентністю до інсуліну і збільшення швидкості Na/Li-протитранспорту підтверджують наявність зв'язку між відхиленнями, опосередкованими, можливо, надфізіологічними концентраціями вказаного гормону [21]. У ході проведених *in vitro* досліджень еритроцитів осіб, які постили, встановлено, що фізіологічні дози інсуліну підвищують V_{\max} та K_m для Na^+ стосовно Na/Li-обміну [28, 60, 75]. *In vitro* виявлено, що Na/Li-обмін проявляє низьку спорідненість з Na^+ у інсулінорезистентних гіпертензивних хворих і па-

цієнтів з інсулінозалежним цукровим діабетом, ускладненим нефропатією [20, 29, 34, 57, 65]. Модуляція інсуліном згаданого антипорту може мати вплив на хронічні зміни Na-гомеостазу за гіпертензії та діабету [26].

Одержано вагомі докази, що посилений Na/Li-протитранспорт в еритроцитах є генетичним маркером есенціальної гіпертензії [31, 67]. Той факт, що інтенсивний обмін іонів вказаною системою характерний і для пацієнтів з інсулінозалежним діабетом, поєднаним з нефропатією, вказує на те, що схильність до гіпертензії може викликати ниркові пошкодження, зокрема послаблення їх функцій [48]. У цьому ж дослідженні встановлено також, що швидкість Na/Li-обміну у пацієнтів з есенціальною гіпертензією, поєднаною або не поєднаною з інсулінозалежним цукровим діабетом, є більшою, ніж у хворих на інсулінозалежний цукровий діабет без гіпертензії, хоча інсулінозалежні пацієнти з гіпертензією і клінічною нефропатією мають ті ж величини швидкості Na/Li-протитранспорту, як такі без нефропатії. Коли хворих на інсулінозалежний діабет поділили на дві групи (з введенням інсуліну або без нього), то швидкість Na/Li-протитранспорту у гіпертоніків виявилась більшою, ніж у нормотоніків. Додавання інсуліну до еритроцитів *in vitro* не приводило до зростання швидкості вказаної іонної транслокації [75]. Наведені дані свідчать про те, що підвищення активності Na/Li-протитранспорту не може бути результатом стимульованого ефекту ендogenous інсуліну та відтворює генетичну схильність до гіпертензії та діабетичної нефропатії пацієнтів не лише з інсулінозалежним, але й з інсулінозалежним діабетом.

Щоб з'ясувати механізм дії інсуліну на іонний обмін, в одному з досліджень вивчали вплив вказаного гормону на кінетичні параметри Na/H-протитранспорту з прицільним вивченням стану інсулінових рецепторів еритроцитів людини [62]. Дану протитранспортну активність вивчали як надходження нетто- Na^+ , рушійною силою якого є скерований назовні H^+ -градієнт. Необхідні вимірювання проводили в різні часові періоди. Клітини інкубували в середовищі, що не містило інсуліну, або за наявності вказаного гормону в кількості 0...100 мікродиниць·1 мл⁻¹. Дію інсуліну на водневу або натрієву активацію кінетики Na^+/H^+ -обміну вивчали протягом 12 год. Інсулін (50 мікродиниць·1 мл⁻¹) збільшував V_{\max} вказаної іонної транслокації (від (28±6) до (49±8) ммоль·1 л клітин⁻¹·1 год⁻¹) та K_m для Na^+ (від (72±10) до (142±19) ммоль), але не змінював K_m для внутрішньоклітинного H^+ . Дія інсуліну проявлялась також підвищенням V_{\max} Na^+/Li^+ -обміну при рН

7,4 (від $(0,34 \pm 0,03)$ до $(0,48 \pm 0,04)$) ммоль \cdot л клітин $^{-1}\cdot$ год $^{-1}$) та зростанням K_m для Na^+ . На основі одержаних результатів зроблено висновки, що інсулін модулює Na^+ -зв'язувальні місця Na^+/H^+ - та Na^+/Li^+ -обмінників незалежно від стану місць зв'язування H^+ . Вплив інсуліну на обидва обміни проявляється також змінами концентрації ендogenous цитоплазматичного Ca^{2+} [41]. Кінетичний вплив інсуліну на цю іонну транслокацію імітує дію інгібітора протеїнфосфатази, що дефосфорилує залишки серину та треоніну – оакодоїкової кислоти, а також зумовлює активацію та фосфорилування Na^+/H^+ -обміну. Ця кислота здатна збільшувати V_{\max} обидвох обмінів та K_m для Na^+ , як і інсулін.

Демонстрація тісного кореляційного зв'язку між кінетичними властивостями Na^+/Li^+ - та Na^+/H^+ -обмінів забезпечила докази на користь гіпотези, що еритроцитний Na^+/Li^+ -протитранспорт є функціональною моделлю Na^+/H^+ -обміну [65].

Очевидність того факту, що обидва обміни опосередковані одним і тим самим білком, засвідчують результати, одержані при виконанні наступного дослідження [26, 30]. Швидкість іонної транслокації обох систем вимірювали, застосовуючи методи ядерного магнітного резонансу. Об'єктом дослідження були інкубовані в середовищах з різними рН за відсутності та наявності градієнта H^+ еритроцити й еритроцитні тіні, ізольовані з крові нормотоніків. Встановлено, що в обох об'єктах активність Na^+/Li^+ -протитранспорту пригнічується амілоридом, його аналогами та флоретином. Інтенсивність виходу Li^+ з еритроцитних тіней є істотно нижчою за наявності рН-градієнта. Амілорид має однакову константу пригнічення для Na^+ - та Li^+ -зв'язувань при рН 8,0 ((1021 ± 48)) проти (960 ± 40) мкМ \cdot л клітин $^{-1}\cdot$ год $^{-1}$) та 7,0 ((731 ± 147)) проти (716 ± 27) мкМ \cdot л клітин $^{-1}\cdot$ год $^{-1}$).

Na^+/Li^+ -антипортер представлений білком, що розташований у мембранах цитоплазми та органеллах в різноманітних клітинах тварин, рослин і мікроорганізмів. Зокрема, *Escherichia coli* має два антипортери – NhaA та NhaB, які забезпечують обмін Na^+ або Li^+ на H^+ . Важливо, що очищений NhaA, Na^+/H^+ -антипортер з *Escherichia coli*, реконструйований в протеоліосоми, можна застосувати для вивчення парціальних реакцій, каталізованих вказаним білком. Це забезпечує можливість моніторингового дослідження впливу позаклітинного Li^+ та Na^+ на дельта-рН-опосередкований протиконцентраційний Na^+/Na^+ -обмін і його гомолог – Na^+/Li^+ -обмін. Слід також взяти до уваги, що детоксикація Li^+ -шляхом його екструзії в позаклітинне середовище може здійснюватися обома

антипортерами, як це показано на *Escherichia coli*: NhaA- та NhaB-системами [50].

Молекулярний механізм збільшення проникності еритроцитної мембрани для Na^+ , який переноситься шляхом Na^+/Li^+ -протитранспорту, поки що вивчено недостатньо. Однак отримано незаперечні докази того, що Na^+/Li^+ -протитранспорт може бути опосередкованим ізоформою NHE-1 – однією з чотирьох ізоформ Na^+/H^+ -обмінника [45], що являє собою кальмодулінозв'язувальний білок. Продемонстровано, що ооцити *Xenopus laevis* володіють Na^+/H^+ -обмінником, який, однак, не може залучатися до процесів Na^+/Li^+ -протитранспорту. Після ін'єкції комплементарно розкодованої РНК з NHE-1 людини ці клітини одержали можливість підвищувати активність Na^+/H^+ -обмінника та Na^+/Li^+ -протитранспорту. Автори дослідження вважають також, що Na^+/Li^+ -протитранспорт та Na^+/H^+ -обмін здійснюються одним і тим самим мембранним транспортним білком NHE-1, але, очевидно, його різними транспортними моделями.

Інші автори [65] дотримуються думки, що хоча наведені вище твердження можуть бути використані як сильний аргумент на користь гіпотези, згідно з якою Na^+/H^+ -обмінник та Na^+/Li^+ -протитранспортер забезпечують здійснення різних функцій та парціальних реакцій єдиного мембранного білка, однак відсутність низки проміжних ланок викликає ускладнення на шляху узагальнення цієї теорії. Так, навіть проведене останнім часом детальне порівняння кінетичної поведінки експресованої NHE-1-ізоформи не може з цілковитою впевненістю бути застосованим до Na^+/Li^+ -протитранспорту інтактної плазматичної мембрани еритроцитів людини [45]. Крім того, наголошується на доцільності обережного сприймання доказів, базованих на використанні фармакологічних інгібіторів, таких, як флоретин, внаслідок наявності у них здатності взаємодіяти з певними структурами цілісної мембрани та низкою різних іонотранспортвальних шляхів [15]. Продемонстроване пригнічення опосередкованого NHE-1-ізоформою Na^+ -залежного виходу Li^+ , зумовлене впливом етилпропіламілориду, не узгоджується з загальновідомою відсутністю ефекту амілориду та його аналогів на еритроцитний Na^+/Li^+ -протитранспортер в його природному стані.

Детальне вивчення молекулярної біології Na^+/Li^+ -протитранспорту засвідчує ключову роль в цьому процесі мембранних білків [72]. Так, результати досліджень наявних при дисліпідеміях модуляцій властивостей Na^+/Li^+ -протитранспорту показали їх зв'язок не лише зі змінами конформацій білків, але й з періодами обертання останніх [40]. Переконаливими є

повідомлення, що зміни в Na-транспортувальних шляхах, як і будь-які інші мембранопатії у гіпертоніків, зумовлені змінами складу ліпідної компоненти мембран [13, 57]. Зокрема, у осіб з родинною гіперхолестеролемією та гіпертригліцеридемією вимірювали швидкість Na/Li-протитранспорту і мембранну мікрров'язкість, одночасно аналізуючи ліпідний профіль крові, артеріальний тиск останньої, концентрації глюкози та інсуліну. Встановлено, що максимальна швидкість Na/Li-протитранспорту була збільшеною у гіпертригліцеридемічній групі, а від'ємний логарифм концентрації триацилгліцеридів корелював з V_{max} Na/Li-протитранспорту. Не виявлено міжгрупових відмінностей K_m для вказаної іонної транслокації [30, 36, 56].

Регуляторами певних мембранних білків, таких, як транспортери та рецептори, є ліпіди. Регуляція реалізується через специфічну взаємодію або як наслідок змін більш загальних властивостей ліпідних компонентів [58, 66, 69]. Модульована плінність може впливати на швидкість транспортера і, як наслідок, обмін іонів, результатом чого є збільшення V_{max} . Ліпіди навколо транспортера можуть перешкоджати зв'язуванню іона, результатом чого є коливання K_m , хоча і зміни, наявні на певних стадіях перенесення іона, також можуть впливати на величину цього параметра.

Становлять значний інтерес результати порівняльного аналізу особливостей розглянутих вище Na-транспортувальних систем в еритроцитах людини та тварин різних видів. Про існування істотних відмінностей зі сторони Na/H-, Na/Li- та Na/Na-протитранспортів свідчать такі дані.

Еритроцити нормотоніків, гіпертоніків та щурів зі спонтанною гіпертензією інкубували в середовищах однакового іонного складу [53]. Li/Na-протитранспорт виявився істотно більшим в еритроцитах гіпертоніків, а в еритроцитах щурів двох вікових груп його функціонування взагалі не зареєстровано, хоча концентрація Li^+ в останньому випадку була в 6 разів вищою. Na-незалежний вихід Li^+ та овабаїнонечутливий вихід Na^+ є більш інтенсивними в еритроцитах щура, ніж людини.

Застосовуючи однакові методи дослідження, нами було встановлено, що властивості натрієвої помпи в еритроцитах людини та щура мають істотну подібність, а Li/Na-протитранспорт не діє в еритроцитах нормотензивних та гіпертензивних щурів [12]. Однак ситуація може різко змінитися, коли дослідження виконувати на закислених клітинах, інкубованих в лужному середовищі, як це здійснено з еритроцитами людини, кроля та щура [12]. Було, таким чином, встановлено, що осмотичне зморщування

еритроцитів щура та кроля стимулює Na/H-обмін, але не Na/Na-обмін. Амilorид пригнічує індуковане зморщенням надходження $22Na$ на 95 та 10-20 % відповідно.

Під час вивчення ролі 4-х овабаїнорезистентних Na^+ -транспортувальних систем в процесі надходження Li^+ в еритроцити людини, курчатка та вугра встановлено такі закономірності: 1) Li-надходження, що забезпечується натрієвою помпою, збільшується у 2-3 рази в такому порядку: людина:вугор:курчатко; 2) протитранспортна обмінна система Li-надходження активується в діапазоні 15-35 %, коли стандартний інкубаційний розчин замінити холінхлоридом; 3) зі сторони аніонообмінної системи зареєстровано лише дуже незначні індивідуальні відмінності; 4) шлях просочування Li^+ має більше значення в еритроцитах людини та вугра, ніж курчатка. На цій основі автори дослідження [64] дійшли висновку про існування вказаних систем у зазначених індивідуумів.

Встановлено, що в еритроцитах кролів швидкість Li-транспортувальних систем визначається віком клітин та ступенем їх окисативного пошкодження [12, 24]. При введенні цим тваринам фенілгідрозину, внаслідок чого кількість ретикулоцитів в крові збільшувалась від 1 до 50 %, найвираженіші зміни проявилися зі сторони Na/H-протитранспорту і значно менші – з боку Na/Li-протитранспорту. Однак за розвитку анемії та збільшення ретикулоцитозу до 80-90 % швидкість Na/Li-протитранспорту зростала у 2,7 рази.

Слід зауважити, що в еритроцитах людини Na^+/Na^+ - та Na^+/Li^+ -обмінні потоки майже в 10 разів слабші, ніж в еритроцитах кроля, хоча їх кінетика є схожою та не виявляє видової специфічності. Вони мають подібну спорідненість з позаклітинним Na^+ і однаково чутливість до деяких, але не до всіх, транспортних інгібіторів. Отже, ці системи в еритроцитах людини та кроля можуть бути представлені одним і тим самим або подібним білком, що міститься в еритроцитах кроля в більшій кількості порівняно з людськими клітинами [15, 26, 37].

Наведені в цьому огляді дані переконливо свідчать про те, що підвищена активність Na^+/Li^+ -протитранспорту в еритроцитах є проміжним фенотипом при багатьох захворюваннях, однак на даний час є вкрай обмеженими відмінності щодо наявності та кінетичних характеристик цього показника в клітинах інших типів. Виняток становлять повідомлення, сумовані нижче.

При дослідженні транспортних моделей у фібробластах шкіри людини встановлено, що стимульований позаклітинним Na^+ вихід Li^+ здійснюється зі швидкістю (152 ± 31) нмоль \cdot 1 мг

білка⁻¹·1 год⁻¹. За внутрішньоклітинного рН 7,3 всі три види обміну є дуже подібними, що вказує на тісне спряження процесів Na/Li-протитранспорту в співвідношенні 1:1. Цей шлях не порушується амilorидом та його аналогами і змінами мембранного потенціалу, але значний гальмівний вплив на вказану іонну транслокацію мають флоретин та внутрішньоклітинне закиснення (рН-6,8). Кінетичний аналіз зовнішніх Na⁺-центрів узгоджується з Na⁺/Li⁺-протитранспортом, тоді як внутрішньоклітинні центри проявляють спорідненість з Li⁺. На основі цих даних сформульовано висновок, що в фібробластах шкіри людини функціонує Na⁺/Li⁺-протитранспорт, подібний до такого в еритроцитах людини [76].

При вивченні особливостей Na⁺/H⁺-обміну в мембранах ізольованих зимогенних гранул з екзокринної частини підшлункової залози щура проводили вимірювання швидкості надходження Na⁺ або Li⁺ в клітини, в тому числі за їх осмотичного набухання або лізису при інкубації останніх в Na- або Li-ацетаті [78]. Встановлено, що Na- або Li-зумовлений лізис відбувається в результаті зростання спрямованого назовні або всередину градієнта H⁺. Ці дані є доповненням до повідомлень щодо ролі моновалентних іонів у здійсненні секреторних процесів з екзокринних клітин підшлункової залози кроля [5]. У цьому дослідженні швидкість секреції зменшувалась при заміні в середовищі інкубації іонів Na⁺ на Li⁺ або K⁺. Найбільш істотним таке пригнічення було за наявності холіну. Катіон, на який замінили Na⁺, з'являється в секретованій рідині, а концентрація Na⁺ знижується. При заміні Na⁺ на холін або Li⁺ концентрація Na⁺ в секретованій рідині зменшується,

а K⁺ – зростає. Автор наведеного дослідження вважає, що за умови заміни Na⁺ на інші моновалентні іони модуляція процесів секреції зумовлюється як прямим гальмуванням активного транспорту HCO₃⁻, так і непрямим ефектом, пов'язаним з відмінностями в проникності плазматичної мембрани для різних іонів.

Про участь Li⁺ в обміні іонів в острівцях Лангерганса свідчить і таке спостереження [4]. Вихід Na⁺ з ізольованих із підшлункової залози щура β-клітин в інкубаційне сольове середовище, що містило Li⁺, виявився значно інтенсивнішим, ніж в середовище з холінхлоридом ((0,492±0,011) проти (0,122±0,012) ммоль Na⁺·1 л клітин⁻¹·1 год⁻¹), відповідно, що вказує на функціонування механізму Na/Li-протитранспорту. При вивченні кінетики аналізованого явища отримано дані, що цей процес є функцією позаклітинного Na⁺. Лінійність вказаної функції в діапазоні концентрацій Na⁺ 0...120 ммоль/л позначається як стимуляція Міхаеліса.

Наведені вище дані літератури дозволили провести метааналіз властивостей порівняно численних іонних обмінників та транспортерів, які забезпечують циркуляцію Li⁺, з акцентуванням уваги на кінетичних характеристиках, лігандних взаємозв'язок, регіональних та тканинно-специфічних способах регуляції їх функцій. Разом з тим, слід відзначити, що фізіологічну роль Na/Li-протитранспорту остаточно не з'ясовано і важко сформулювати переконливе пояснення, яким чином зростання його активності безпосередньо впливає на розвиток того чи іншого захворювання. Підвищена активність вказаного іонного обміну може становити маркер більш фундаментальних пошкоджень плазматичних мембран.

ЛІТЕРАТУРА

1. Влох І.Й., Мороз О.М. Про доцільність дослідження властивостей еритроцитних іон-транспортуючих систем у психіатрії // Матер. VII конгресу світової федерації українських лікарських товариств. – Львів-Трускавець, 2000. – С. 285.
2. Влох І.Й., Мороз О.М., Байса І.Ю., Гринчишин Н.М. Na/Li-протитранспорт в еритроцитах при хворобі Альцгеймера // Арх. психіатрії. – 2001. – № 4. – С. 41-43.
3. Влох І.Й., Шкаволяк А.В., Павлюст Л.П. та ін. Стандартна активність Na/Li-протитранспорту в еритроцитах жінок та чоловіків // Укр. мед. вісті. – 2003. – 5, № 1. – С. 157.
4. Гжегоцький М.Р., Шкаволяк А.В., Бобровник А.Д. Швидкість Na,K,Cl-котранспорту та Na/Li-протитранспорту в бета-клітинах підшлункової залози

щура. Вплив концентрації позаклітинного Na⁺ // Наук. вісн. Львівської держ. акад. ветеринарної медицини ім. С.З. Гжицького. – 2000. – 2, № 3-4. – С. 13-19.

5. Макаров В.Л. Модуляція активності Na⁺,K⁺-насоса і Na⁺,Li⁺-обмена в еритроцитах кроликів на різних стадіях кормлення холестерином // Биохимия. – 1995. – 60, № 9. – С. 1468-1476.

6. Мороз А.М. Модуляція іон-транспортуючих функцій невозбудимых мембран излучением гелий-неонового лазера: Автореф. дис. ... д-ра. биол. наук. – К., 1990. – 37 с.

7. Мороз О.М., Вербінець Л.А., Гринчишин Н.М., Панас А.Р. Na/Li-протитранспорт в еритроцитах при алкогольних захворюваннях печінки // Лікарський збірник: Нова серія. – Львів-Чикаго, 2000. – 8. –

С. 133-137.

8. Мороз О.М., Влох І.Й. Na, K, Cl-котранспорт та Na/Li-протитранспорт у хворих на ендогенні психози // Лікарський вісник: Журн. Українського лікарського товариства Північної Америки. – 1995. – **138**, № 1. – С. 31-34.

9. Мороз О.М., Влох І.Й. Про можливість транспортування іонів літію шляхом натрій, калій-котранспорту // Тези доповідей І з'їзду Українського біофізичного т-ва. – К., 1994. – С.169-170.

10. Мороз О.М., Гринчишин Н.М., Панас А.Р. Порушення Na-транспортуєчих систем в еритроцитах за алкоголізму та їх корекція фуразолідом // Галиц. лікар. вісник. – 2000. – **7**, № 3. – С. 90-93.

11. Мороз О.М., Лисюк О.І., Панасюк Є.М., Бобровник А.Д. Овабайн-резистентний транспорт моновалентних іонів в залозисто-епітеліальних клітинах органів травного тракту // Арх. клинич. и эксперим. мед. – 1998. – **7**, № 2. – С. 199-205.

12. Орлов С.Н., Кузнецов С.Р., Колосова И.А., Макаров В.Л. Na⁺/H⁺- и Na⁺/Na⁺-противотранспорт в эритроцитах человека, кролика и крысы: Доказательства существования двух независимых ион-транспортирующих систем // Биохимия. – 1994. – **59**, № 5. – С. 639-647.

13. Постнов Ю.В., Орлов С.Н. Первичная гипертензия как патология клеточных мембран. – М.: Медицина, 1987. – 189 с.

14. Харманов В.Н. Натрийуретические гормоны и их роль в нарушении мембранного транспорта натрия и патогенезе некоторых форм артериальных гипертензий: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – С.Пб., 1993. – 32 с.

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

16. Шкаволяк А.В., Галібей І.Б. Властивості систем Na, K, Cl-котранспорту та Na/Li-протитранспорту в еритроцитах людини // Зб. наук. праць співробітників Київської мед. акад. післядипломної освіти ім. П.Г. Шупика – К., 1999. – Вип. 8, кн.1. – С. 294-296.

17. Adebayo G.I., Gaffney P., Sinnott M., Feely J. Assay of human erythrocyte sodium-dependent lithium efflux: The importance of timing of blood sampling // Eur. J. Clin. Invest. – 1996. – **26**, № 2. – P. 131-135.

18. Adebayo G.I., Hemeryck L., Hall M., Gasparro D. Catamnenial variations in erythrocyte sodium-lithium countertransport and blood pressure // Clin. Sci. (Colch.). – 1997. – **40**. – P.29-34.

19. Agam G., Deutsch I., Karplus M., Livne A.A. Erythrocyte Li⁺-Na⁺o countertransport in the newborn // Biol. Neonate. – 1993. – **64**, № 1. – P. 13-17.

20. Andronico Z. Insulin, sodium-lithium countertransport and microalbuminuria in hypertensive patients // Hypertension. – 1998. – **31**, № 1. – P. 324-326.

21. Andronico Z., Mangano M.T., Nardi E., Mule G. Insulin-like growth factor 1 and sodium-lithium countertransport in essential hypertension and hypertensive left ventricular hypertrophy // J. Hypertens. – 1993. – **11**, № 10. – P. 1097-2101.

22. Besch W., Blucher H., Bettin D., Wolf F. Erythrocyte sodium-lithium countertransport, adenosine

triphosphatase activity and sodium-potassium fluxes in insulin-dependent diabetes // Int. J. Clin. Lab. Res. – 1995. – **25**, № 2. – P. 104-109.

23. Besch W., Schlader D., Brahm J., Kohnert H.D. Validation of red cell sodium-lithium countertransport measurement – influence of different loading conditions // Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. – 1995. – **33**, № 10. – P. 715-719.

24. Brugnara C., de Franceschi L. Effect of cell age and phenylhydrazine on the cation transport properties of rabbit erythrocytes // J. Cell. Physiol. – 1992. – **154**, № 2. – P. 271-280.

25. Bursell I.D., Kiek I.C. Swelling-activated K⁺ transport in vitro functionally distinct pathways in eel erythrocytes // Am. J. Physiol. – 1996. – **249**. – P. 61-70.

26. Canessa M. Kinetic properties of Na/H exchange and Li/Na, Na/Na, and Na/Li exchange of human red cells // Methods Enzymol. – 1989. – **173**. – P. 176-191.

27. Canessa M., Adragna N., Solomon H.S. et al. Increased sodium-lithium countertransport in red cells of patients with essential hypertension // New. Engl. J. Med. – 1980. – **302**. – P. 772-776.

28. Canessa M., Zerbini G., Laffel L.M. Sodium activation kinetics of red blood cell Na⁺/Li⁺ countertransport in diabetes: Methodology and controversy // J. Am. Soc. Nephrol. – 1992. – **3**, Suppl. 4. – P. 41-49.

29. Chen Y.D., Zheng E.L., Wen L.R. Red cell sodium-lithium countertransport in patients with IgA nephropathy and renal hypertension // Chung. Hua. I. Hsueh. Tsa Chin. – 1994. – **74**, № 4. – P. 214-217.

30. Chi Y., Mota de Freitas D., Sikora M., Bansai V.K. Correlation of Na⁺-Li⁺ exchange activity with Na⁺ and Li⁺ binding and phospholipid composition in erythrocyte membranes of white hypertensive and normotensive individuals: A nuclear magnetic resonance investigation // Hypertension. – 1996. – **27**, № 3, Pt. 1. – P. 455-464.

31. Chiarelli F., Verrotti A., Kalter-Leibovici O., Laron Z. Genetic predisposition to hypertension (as detected by Na⁺/Li⁺ countertransport) and risk of diabetic nephropathy in childhood diabetes // J. Pediatr. Child. Health. – 1994. – **30**, № 6. – P. 547-549.

32. Corchs J.L., Mudica G., Serrani R.E. Human red cell from prenatal stages of hemopoiesis lithium flux components // Rev. Esp. Fisiol. – 1996. – **18**. – P.77-82.

33. Cossins A.R., Gibson J.S. Volume-sensitive transport systems and volume homeostasis in vertebrate red blood cells // J. Exp. Biol. – 1997. – **200**, Pt. 2. – P. 343-352.

34. Crompton C.H., Balfe J.W., Balfe J.A. et al. Sodium-lithium countertransport in adolescents with IDDM: Relationship to incipient nephropathy and glycemic control // Diabetes Care. – 1994. – **17**, № 7. – P. 704-170.

35. Delva P., Pastori C., Degan M. et al. Erythrocyte Na⁺-H⁺ exchanger kinetics and Na⁺-Li⁺ countertransport activity in essential hypertensive patients // Eur. J. Clin. Invest. – 1996. – **26**, № 1. – P. 64-70.

36. Dowd A., Thomas T.H., Taylor R., Wilkinson R. Erythrocyte sodium-lithium countertransport fluidity in IDDM patient // Diabetologia. – 1994. – **37**. – P. 394-400.

37. Escobales N., Figueros J. Na⁺/Na⁺ exchanges

- and Na⁺/H⁺-antiport in rabbit erythrocytes: two distinct systems // *J. Membr. Biol.* – 1991. – **120**. – P. 41-49.
38. Fabbri A., Boero R., Degli Esposti E., Guarena C. Aggregation of erythrocyte sodium/lithium countertransport activity in families of patients with immunoglobulin A nephropathy // *Clin. Sci.* – 1992. – **83**, № 2. – P. 241-245.
39. Falkner B., Canessa M., Anzalone D. Effect of angiotension converting enzyme inhibitor (lisinopril) on insulin sensitivity and sodium transport in mild hypertension // *Am. J. Hypertens.* – 1995. – **8**, № 5, Pt. 1. – P. 454-460.
40. Franchi-Gazzola R., Visigalli R., Bussolati O., Dall'Asta V. Adaptive increase of amino acid transport system A requires ERK 1/2 activation // *J. Biol. Chem.* – 1999. – **274**. – P. 28922-28928.
41. Fujita J., Tsuda K., Seno M., Obayashi H. Elevated erythrocyte sodium-lithium countertransport activity correlates with increased intracellular sodium and free calcium ion concentration in type 2 diabetes // *Diabet. Med.* – 1996. – **13**, № 1. – P. 53-58.
42. Gende O.A., Cingolani H.E. Identification of a sodium-bicarbonate symport in human platelets // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1996. – **1278**, № 1. – P. 119-124.
43. Hardman T.C., Croft P., Barlow R., Wierzbicki A.S. Ethnic origin and hypertension-associated alterations in sodium-lithium countertransport kinetics // *J. Hum. Hypertens.* – 1995. – **9**, № 8. – P. 687-689.
44. Hardman T.C., Dubrey S.W., Leslie R.D., Lant A.F. Erythrocyte sodium-lithium countertransport activity in non-nephropathic diabetic twins // *Diabetes Care.* – 1996. – **19**, № 1. – P. 32-38.
45. Hardman T.C., Land A.F. Controversies surrounding erythrocyte sodium-lithium countertransport // *J. Hypertens.* – 1996. – **14**, № 6. – P. 695-703.
46. Herlitz H., Landin K., Widgren C.B. Relationship between sodium-lithium countertransport and insulin sensitivity in mild hypertension // *J. Int. Med.* – 1996. – **293**, № 3. – P. 235-240.
47. Hermans A.N. Activation of Na⁺/K⁺ pump current by intra and extracellular Li⁺ ions in single guinea-pig cardiac cell // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1997. – **1330**, № 1. – P. 83-93.
48. Ho K., Rutherford P.A., Thomas T.H., Wilkinson R. Abnormal sodium-lithium countertransport kinetics in immunoglobulin A nephropathy patients and the families: Association with hypertension // *Am. J. Kidney Dis.* – 1996. – **27**, № 3. – P. 334-340.
49. Hoffmann E.K., Dunham P.B. Membrane mechanisms and intercellular signaling in cell volume regulation // *Int. Rev. Cytol.* – 1995. – **161**. – P. 173-262.
50. Inaba K., Kuroda T., Shimamoto T., Kayahara T. Lithium toxicity and Na⁺(Li⁺)/H⁺ antiporter in *Escherichia coli* // *Biol. Pharm. Bull.* – 1994. – **17**, № 3. – P. 395-398.
51. Kaijpers G. Role of monovalent cation in fluid secretion from the exocrine rabbit pancreas // *Biochim. Biophys. Acta. Biomembranes.* – 1989. – **984**, № 1. – P. 63-70.
52. Knudsen T. The Na⁺/K⁺ pump in rat peritoneal mast cells: Some aspects of regulation of activity and cellular function // *Dan. Med. Bull.* – 1995. – **42**, № 5. – P. 441-454.
53. Lau Y.T., Tsai C.J., Tseng A.H. Comparison of sodium transport processes of human and rat erythrocytes in hypertension // *J. Formos. Med. Assoc.* – 1992. – **91**, № 7. – P. 674-679.
54. Lijnen P., Fenyvesi A. Transmembrane cationic fluxes in erythrocytes of diabetics and normal men // *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* – 1994. – **16**, № 1. – P. 37-47.
55. Lijnen P., Petrov V. Cell membrane cation transport systems during aldosterone antagonism // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 1996. – **27**, № 4. – P. 462-468.
56. Lijnen P., Petrov V., Amery A. Relationship between erythrocyte cation transport systems and plasma lipids in healthy men // *Am. J. Med. Sci.* – 1994. – **307**, Suppl. 1 – P. 146-149.
57. Monciotti C.G., Semplicini A., Morocutti A., Maioli M. Elevated sodium-lithium countertransport activity in erythrocytes is predictive of development of microalbuminuria in IDDM // *Diabetologia.* – 1997. – **40**. – P. 654-661.
58. Muriana F.J., Villar J., Ruiz-Gutierrez V. Erythrocyte membrane cholesterol distribution in patients with untreated essential hypertension: Correlation with sodium-lithium countertransport // *J. Hypertens.* – 1996. – **14**, № 4. – P. 433-436.
59. Nag L.L., Quinn P.A., Baker F. et al. Red cell Na⁺/Li⁺ countertransport and Na⁺/H⁺ exchanger isoform in human proximal tubules // *Kidney Int.* – 2000. – **58**, № 1. – P. 229-235.
60. Pinkney J.M., Denver A.E., Foyle W.J., Foster C. Insulin resistance and not hyperinsulinemia determines erythrocyte Na⁺/Li⁺ countertransport in non-insulin-dependent diabetes mellitus // *J. Hum. Hypertens.* – 1995. – **9**, № 8. – P. 685-686.
61. Poch E., Gonzalez-Nunez D., Compte M. et al. G-protein beta-3-subunit gene variant, blood pressure and erythrocyte sodium/lithium countertransport in essential hypertension // *Br. J. Biomed. Sci.* – 2002. – **59**, № 2. – P. 101-104.
62. Pontremoli R., Zerbini G., Rivera A., Canessa M. Insulin activation of red blood cell Na⁺/Li⁺ exchange decreases of sodium sites // *Kidney Int.* – 1994. – **46**, № 2. – P. 365-375.
63. Reusch H.P., Lowe J., Ives H.E. Osmotic activation of a Na⁺-dependent Cl⁻/HCO₃⁻-exchanger // *Am. J. Physiol.* – 1995. – **268**, № 1, Pt. 1. – P. 147-C.153.
64. Romano L., Battaglia M., Cordi R., Rinaldi C. Lithium transport pathways in human, chicken and eel erythrocytes // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1995. – **210**, № 1. – P. 119-125.
65. Rutherford P.A., Thomas T.H., O'Kelly J., West I.C. Thiol group control of sodium-lithium countertransport kinetics in uremia: Evidence of a membrane abnormality effected by haemodialysis // *Nephron.* – 1996. – **72**, № 2. – P. 184-188.
66. Saitta A., Saitta M.N., Messina A., Bonaiuto M. Transmembrane sodium transport systems in various forms of hyperlipoproteinemia // *Minerva Med.* – 1996. – **40**. – P. 449-454.
67. Semplicini A., Lusiana L., Marzola M., Ceolotto G. Erythrocyte Li⁺/Na⁺ and Na⁺/H⁺ exchange, cardiac anatomy and function in insulin-dependent diabetics // *Eur. J. Clin. Invest.* – 1992. – **22**, № 4. – P. 254-259.
68. Siffert W., Busch S. Sodium-lithium countertransport // *J. Hypertens.* – 1996. – **14**, № 9. – P. 1153-1154.
69. Stengard J.H., Zerba K.E., Turner S.T., Sing C.F.

A biometrical study of the relationship between sodium-lithium countertransport and triglycerides // *Annals Human Genetics*. – 1997. – **61**, Pt. 2. – P. 121-136.

70. Stokke E.S. Dissociation between water and lithium transport during acute changes in plasma potassium concentration in dog kidney // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* – 1997. – **57**, № 6. – P. 471-1.

71. Strazzullo P., Cappuccio F.P., Miller M.A., Buckley M.G. Erythrocyte sodium-lithium countertransport: Relationship with plasma renin activity, aldosterone and arterial natriuretic peptide in a population study // *J. Hum. Hypertens.* – 1994. – **8**, № 3. – P. 199-204.

72. Thomas T.H., Rutherford P.A., West I.C., Wilkinson R. Sulphydryl group control of sodium-lithium countertransport kinetics: A membrane protein control abnormality in essential hypertension // *Eur. J. Clin. Invest.* – 1995. – **25**, № 4. – P. 235-240.

73. Weinman E.J., Chamras H. Reconstitution of human red blood cell Na/H and Na/Na exchange transport // *Am. J. Med. Sci.* – 1996. – **312**, № 2. – P. 47-53.

74. Winocour P.H., Catalano C., Thomas T.H., Wilkinson R. Increased red cell sodium lithium countertransport activity, total exchangeable sodium, and hormonal control of sodium balance in normoalbuminuric type I diabetes // *Diabet. Med.* – 1993. – **10**, № 9. – P. 825-832.

75. Zerbini G., Ceolotto G., Gaboury C., Mos L. Sodium-lithium countertransport has low affinity for sodium in hyperinsulinemic hypertensive subjects // *Hypertension*. – 1996. – **25**, № 5. – P. 986-993.

76. Zerbini G., Mangili R., Gabellini D., Pozza G. Modes of operation of an electroneutral Na⁺/Li⁺ countertransport in human skin fibroblasts // *Am. J. Physiol.* – 1997. – **272**, № 4, Pt. 1. – P. 1373-C.1379.

77. Zhang G.S. RBC Na⁺-Li⁺ countertransport and Na⁺-K⁺ cotransport in patients with essential hypertension // *Chung Hua Hsueh Kuan Ping Tsa Chin.* – 1993. – **21**, № 4. – P. 204-206.

78. Zhao H., Muallem S. Agonist-specific regulation of [Na⁺] in pancreatic acinar cells // *J. Gen. Physiol.* – 1995. – **106**, № 6. – P. 1243-1263.

ПУТИ ТРАНСПОРТА ЛИТИЯ В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

А.В. Шкаволяк, И.И. Влох

ЛЬВОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

Резюме

В этом обзоре собрана информация об овабаиночувствительном транспорте моновалентных ионов через клеточную мембрану. Целью данного исследования было: 1) установить различия в природе Na/Li-противотранспортных систем в эритроцитах человека в норме, а также при эссенциальной и почечной гипертензии, диабете, нефропатии, различных формах гиперлиппротеинемии, эндогенных психозах, других ионных мембранопатиях; 2) сравнить способы осуществления транспорта Li⁺, гормональный контроль, модуляцию и регуляцию кинетического взаимодействия между литием и другими моновалентными ионами, зависимость от ионного состава внеклеточной среды, pH, влияния объема клеток.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: овабаиночувствительный транспорт, литий, натрий, водород, ионные мембранопатии.

TRANSPORT PATHWAYS FOR LITHIUM THROUGH MAMMALIAN CELLS

A.V. Shkavoliak, I.Y. Vloch

LVIV STATE MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY

Summary

In this review the information on the ouabaine-insensitive monovalent cation transport across the cell membranes was collected. The aim of this study was: 1) to investigate the differences in the nature of the sodium/lithium-countertransport systems in the healthy human erythrocytes and essential and renal hypertension, diabetes, nephropathy, various forms of hyperlipoproteinemia, endogenous psychoses, other ionic membranopathies; 2) to compare the hormonal control, modulation and regulation of cells kinetic interaction between lithium and other monovalent ions, dependence on ionic composition of external medium, pH dependency, the effect of cell volume.

KEY WORDS: ouabaine-insensitive transport, lithium, sodium, hydrogen, ionic membranopathies.

Отримано 24.07.2003 р.

Адреса для листування: А.В. Шкаволяк, вул. Купальська, 32, кв. 1, Львів, 79037, Україна.

КОНЦЕПЦІЇ ПАТОГЕНЕЗУ ХРОНІЧНОЇ СЕРЦЕВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

С.М. Андрейчин, М.І. Швалюк

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

В огляді літератури на основі сучасних відомостей обговорюються патогенетичні аспекти хронічної серцевої недостатності. Зроблено висновок про необхідність врахування різних моделей її формування для проведення адекватного лікування.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **огляд, хронічна серцева недостатність, патогенез.**

Однією з проблем медицини є хронічна серцева недостатність (ХСН). Вона залишається летальною стадією серцево-судинної патології, що зумовлена артеріальною гіпертензією, коронарною хворобою серця, ураженням клапанного апарату серця, цукровим діабетом, кардіоміопатіями [20, 23]. Збільшення частоти ХСН в останнє десятиріччя пов'язане з покращанням медикаментозного і хірургічного лікування поширених хвороб серця, що призводить до зростання числа хворих, які доживають до більш похилого віку і до тієї стадії ХСН, при якій висока смертність [6, 8, 17]. Достовірних даних про поширення серцевої недостатності в різних країнах світу немає, що пов'язано з розходженням думок про діагностичні критерії стадій ХСН [9, 19].

Складність цього питання полягає й у відсутності єдиного визначення поняття "серцева недостатність". Проте зрозуміло, що в її основі лежить порушення фізіологічної роботи серця внаслідок певного структурного чи функціонального захворювання, яке істотно знижує якість життя і часто є причиною смерті [18]. Головними клінічними проявами ХСН є задишка, загальна слабкість, які значно обмежують фізичну активність, периферичні набряки внаслідок затримки рідини [17, 24].

В основі синдрому серцевої недостатності можуть лежати захворювання ендокарда, міокарда, перикарда чи крупних судин, проте більшість симптомів виникає внаслідок порушення широкого спектра функцій лівого шлуночка [14, 15, 16]. Пусковим механізмом розвитку і прогресування ХСН є неадекватні гемодинамічні умови функціонування серця, недостатня маса нормально функціонуючих кардіоміоцитів для підтримання насосної функції міокарда [5]. За відсутності коригувального впливу ці механізми стають постійними факто-

© С.М. Андрейчин – д.мед.н., М.І. Швалюк, 2004.

рами прогресування ХСН. До них приєднуються ремоделювання шлуночків, активація нейрогуморальних систем, оксидний стрес і апоптоз [4]. Результати генетичних досліджень показують, що при ХСН відбувається зміна в експресії генів, які відповідають за контракційну функцію кардіоміоцитів. Зміна внутрішньої функції, що відповідає за скорочення і розслаблення серця, пов'язана з патологією скоротливих білків або їх регуляторних елементів, недостатністю енергетичних механізмів або пошкодженням цитоскелета. Зміна моделюючої функції кардіоміоцитів, що визначає здатність міокарда змінювати свою функцію під дією певних чинників, обумовлена виснаженням β -адренергічної стимуляції внаслідок зміни кількості рецепторів [21].

На даний час відомі різні теорії, які лежать в основі синдрому серцевої недостатності. Так, у кінці 40-х років сформувалась кардіоренальна концепція. Суть її полягає в тому, що затримка електролітів і води нирками в поєднанні з порушенням перфузії клубочків призводить до недостатності кровообігу.

Через декілька десятиліть поширення набула гемодинамічна теорія, згідно з якою серцева недостатність виникає внаслідок пригнічення насосної функції серця разом із порушенням периферичного кровообігу [3].

У 80-ті роки минулого століття популярності набула нейрогуморальна концепція, яка базувалась на гіперреактивності ренін-альдостерон-ангіотензинової (РААС) та симпатoadреналової систем. Згідно з нейрогенною теорією, в результаті хронічної гіперреактивації відбувається збільшення пейсмейкерної активності клітин міокарда, перевантаження мітохондрій кардіоміоцитів кальцієм [13], що призводить до порушення процесів скорочення і розслаблення міокарда, руйнування кардіоміоцитів внаслідок активації протеаз і фосфо-

ліпаз, гіпертрофія міокарда, порушення систолічної і діастолічної функцій лівого шлуночка [1, 10]. Сукупність цих негативних ефектів викликає гіперсимпатикотонію, що зумовлює локальну акумуляцію дериватів норадреналіну, які володіють прооксидними властивостями. Це спричиняє оксидний стрес із вивільненням нейротрансмітерів з цитотоксичною дією [2]. Ендокринна регуляція включає пресорну РААС і кортикостероїдні гормони, а також депресорну систему ниркових простагландинів і передсердного натрійуретичного пептиду. При ХСН відбувається гіперпродукція ангіотензину-II і альдостерону внаслідок активації РААС. Це зумовлює підвищення реабсорбції іонів натрію, яке проявляється збільшенням затримки води та об'єму циркулюючої крові й посиленням продукції колагену, що спричиняє дисфункцію і ремоделювання міокарда, поперечносмугастих м'язів і клубочків нирок [11].

Важлива роль у патогенезі ХСН належить натрійуретичним пептидам (НУП). Передсердний і мозковий НУП належать до кардіальної натрійуретичної системи та мають широкий спектр біологічної дії: підвищення рівня клубочкової фільтрації, зниження реабсорбції іонів натрію і води в нирках, систолічного артеріального тиску, дилатація коронарних і ниркових судин, пригнічення синтезу реніну, альдостерону, ангіотензину-II [12, 22]. При ХСН НУП покращують скоротливу функцію міокарда і

збільшують серцевий викид за рахунок зменшення перед- і постнавантаження на лівий шлуночок із збереженням адекватного венозного притоку до серця [7, 10, 22].

На сьогодні перевагу віддають імунній моделі формування серцевої недостатності. Згідно з цією теорією, при серцево-судинних захворюваннях відбувається зниження серцевого викиду, що зумовлює порушення мікроциркуляції, системну тканинну гіпоксію, надлишок вільних радикалів. Це призводить до неспецифічної активації моноцитів і макрофагів у плазмі та міжкислинній рідині, симпато-адреналової системи, власне кардіоміоцитів, що є маркерами синтезу прозапальних цитокінів [26]. Саме вони визначають інтенсивність процесів патологічного ремоделювання міокарда і судин шляхом регуляції рівня апоптозу [3, 25].

Активация нейротрансмітерів, прозапальних цитокінів, перебудова біомеханіки міокарда зумовлюють зміну генної експресії, руйнування кардіоміоцитів, клітинне ремоделювання, що призводить до дисфункції і ремоделювання серцевого м'яза.

Таким чином, остаточної та єдиної моделі формування і прогресування серцевої недостатності немає. Вивчення ролі нейрогормонів, цитокінів, натрійуретичних пептидів, генетичних механізмів є перспективним і необхідним для проведення адекватного патогенетичного лікування ХСН та поліпшення якості життя пацієнтів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Асташкин Е.И., Глезер М.Г., Ходорова А.Б. и др. Кальциевый ответ лимфоцитов на стандартные тест-вещества у больных ишемической болезнью сердца с недостаточностью кровообращения // Кардиология. – 2001. – № 12. – С. 67-68.
2. Визир В.А., Березин А.Е. Прединдикторы низкой клинической эффективности традиционной терапии тяжелой сердечной недостаточности, развившейся вследствие ишемической болезни сердца // Запорож. мед. журн. – 2003. – 1, № 6 (21). – С. 24-25.
3. Визир В.А., Березин А.Е. Роль иммунной и воспалительной активации в формировании и прогрессировании сердечной недостаточности // Укр. мед. часопис. – 1999. – № 6 (14). – С. 13-19.
4. Власова А.В., Лямина Н.П., Лямина С.В. Диспансерное наблюдение – модель организации вторичной профилактики хронической сердечной недостаточности // Кардиология. – 2002. – № 11. – С. 6-7.
5. Воронков Л.Г. Изменения в сердце как основа прогрессирования сердечной недостаточности: основные механизмы // Укр. кардіол. журн. – 1999. – № 1. – С. 5-8.
6. Гиляревский С.Р., Орлов В.А., Хамчакова Л.К.

и др. Влияние терапевтического обучения больных с выраженной хронической сердечной недостаточностью на качество их жизни и потребность в повторных госпитализациях: результаты 12-месячного рандомизированного исследования // Кардиология. – 2002. – № 5. – С. 56-57.

7. Гуревич М.А., Мравян С.Р., Власова Т.Е. Значение системы предсердных Na-уретических пептидов при сердечной недостаточности и артериальной гипертензии // Кардиология. – 2003. – № 9. – С. 81-86.

8. Иванов В.П., Коновалова Н.В., Гаврилова Е.В., Пилипчук В.П. Факторы, способствующие развитию сердечной недостаточности у больных ишемической болезнью сердца, осложненной пароксизмальной формой фибрилляции предсердий // Кардиология. – 2001. – № 5. – С. 58-59.

9. Ильницький А.Н. Эффективность медицинской реабилитации больных с хронической сердечной недостаточностью // Кардиология. – 2003. – № 7. – С. 84-85.

10. Колесник Ю.М. Нейроиммуноэндокринные взаимоотношения в патогенезе заболеваний сердечно-сосудистой системы // Запорож. мед. журн. –

2003. – 1, № 6. – С. 5-9.

11. Крикота Е.Н., Дейнега В.Г., Доценко С.Я., Герасименко Л.В. Особенности развития хронической сердечной недостаточности у больных с ИБС и сопутствующей гипертонической болезнью // Запорож. мед. журн. – 2003. – 1, № 6 (21). – С. 71-73.

12. Малая Л.Т., Горб Ю.Т., Рачинский И.Д. Хроническая недостаточность кровообращения. – К.: Здоров'я, 1994. – 623 с.

13. Насонов Е.Л. Остеопороз и заболевания сердечно-сосудистой системы // Кардиология. – 2002. – № 3. – С. 110-111.

14. Отраслевой стандарт "Протокол ведения больных. Сердечная недостаточность". – ОСТ 91500.11.0003-2002. – Часть I. – М.: Издательский дом "Русский врач". 2003. – 132 с.

15. Отраслевой стандарт "Протокол ведения больных. Сердечная недостаточность". – ОСТ 91500.11.0003-2002. – Часть II. – М.: Издательский дом "Русский врач". 2003. – 132 с.

16. Преображенский Д.В., Сидоренко Б.А., Шастунова И.М., Олександрова А.Ю. Застойная хроническая сердечная недостаточность с нормальной систолической функцией левого желудочка // Кардиология. – 2001. – № 1. – С. 85-86.

17. Сидоренко Б.А., Преображенский Д.В. Современные подходы к диагностике и лечению хронической сердечной недостаточности. Рекомендации Американской коллегии кардиологов и Американской ассоциации кардиологов 2001 г. // Кардиология. – 2002. – № 6. – С. 65-66.

18. Сидоренко Г.И., Фролов А.В. Модификация клинической классификации сердечной недостаточности с количественной оценкой функциональ-

ных нарушений // Кардиология. – 2002. – № 12. – С. 13-14.

19. Сидоренко Г.И., Фролов А.В., Станкевич В.И., Воробьев А.П. Некоторые итоги и перспективы исследований сердечной недостаточности // Кардиология. – 2002. – № 3. – С. 4-5.

20. Терещенко С.Н., Демидова И.В., Левчук Н.Н., Кобалава Ж.Д. Клинико-статистический анализ хронической сердечной недостаточности // Терапевт. арх. – 1999. – № 1. – С. 42-46.

21. Терещенко С.Н., Джанани Н.А., Моисеев В.С. Генетические аспекты хронической сердечной недостаточности // Терапевт. арх. – 2000. – № 4. – С. 75-77.

22. Терещенко С.Н., Павликова Е.П., Мерай И.А., Моисеев В.С. Мозговой натрийуретический гормон и сердечная недостаточность // Кардиология. – 2002. – № 8. – С. 58-59.

23. Cleland J.G.F., Khand A., Clark A. The Heart Failure Epidemic: Exactly How Big is it? // European Heart Journal. – 2001. – № 22. – P. 623-626.

24. Gibelin P. An Evaluation of Symptom Classification System Used for the Assessment of Patient with Heart Failure in France // European Journal of Heart Failure. – 2001. – № 3. – P. 739-746.

25. Hanyes W.G., Webb D.G. Endotelin as a regulator of cardiovascular function in health and disease // Journal of Hypertension. – 1998. – № 16 (Suppl. 8). – P. 1081-1098.

26. Munger M.A., Jonson B., Amber I.J. et al. Circulating concentrations of proinflammatory cytokines in mild or moderate heart failure secondary to ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy // American Cardiology Journal. – 1996. – № 77. – P. 723-727.

КОНЦЕПЦИИ ПАТОГЕНЕЗА ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

С.М. Андрейчин, М.И. Швалюк

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

В обзоре литературы на основании современных сведений обсуждаются патогенетические аспекты хронической сердечной недостаточности. Сделан вывод о необходимости учета разных моделей её формирования для проведения адекватного лечения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: обзор, хроническая сердечная недостаточность, патогенез.

CONCEPTS OF PATHOGENESIS OF CHRONIC HEART FAILURE

S.M. Andreychyn, M.I. Shvalyuk

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

This literature review presents the current information on pathogenetic aspects of chronic heart failure. It is made a conclusion about necessity of the consideration of different models of its formation for adequate treatment.

KEY WORDS: review, chronic heart failure, pathogenesis.

Отримано 01.03.2004 р.

Адреса для листування: С.М. Андрейчин, вул. С. Бандери, 92, кв. 104, Тернопіль, 46013, Україна.

УДК 615.07:543.42.062.

**ЗАСТОСУВАННЯ 4-НІТРОБЕНЗОІЛГІДРАЗОН-1,4-БЕНЗОХІНОНОКСИМУ
ДЛЯ АНАЛІЗУ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМ З КОФЕЇН-БЕНЗОАТОМ
НАТРІЮ****А.С. Коржова**

ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Запропоновано спектрофотометричні способи кількісного визначення кофеїн-бензоату натрію на основі реакції з 4-нітробензоїлгідрозон-1,4-бензохіноноксिमом у субстанції, готових та екстемпоральних лікарських формах. Способи відзначаються високою чутливістю та простотою виконання.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кофеїн-бензоат натрію, спектрофотометрія, 4-нітробензоїлгідрозон-1,4-бензохіноноксिम.

ВСТУП. Кофеїн-бензоат натрію є психомоторним стимулятором, який впливає на функції головного мозку та активізує психічну і фізичну діяльність організму [5].

Широке застосування кофеїн-бензоату натрію в медичній практиці потребує наявності простих у виконанні, високочутливих способів його кількісного визначення. Згідно з аналітичною нормативною документацією, аналіз препарату полягає у визначенні кількості кофеїну йодометричним методом після осадження його у вигляді періодиду та подальшого визначення вмісту бензоату натрію шляхом кислотно-лужного титрування у водно-ефірному середовищі [4]. Метод не відзначається високою чутливістю, малоспецифічний та потребує багато часу. Тому останнім часом широко застосовують більш досконалі інструментальні методи аналізу [7]. Відомі методики кількісного визначення кофеїн-бензоату натрію з використанням похідної спектрофотометрії [3], диференційної спектрофотометрії [6, 8, 9] та безпосередньої спектрофотометрії в УФ і видимій ділянках спектра [1, 10]. Перспективність цього напрямку аналізу зумовила мету нашої роботи, а саме: створення простих у виконанні та достовірних спектрофотометричних способів кількісного визначення препарату на основі реакцій з органічними реагентами.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Попередні експериментальні дослідження показали, що ко-

© А.С. Коржова, 2004.

феїн-бензоат натрію реагує з 4-нітробензоїлгідрозон-1,4-бензохіноноксिमом у середовищі ацетону при кімнатній температурі. Забарвлена у фіолетовий колір сполука стійка протягом 40 хв і має максимум поглинання при довжині хвилі 560 нм.

Мінімум препарату, який розраховано за загальновідомою методикою [2], становить 0,70 мкг/мл. Підпорядкування закону світлопоглинання перебуває в межах концентрації кофеїн-бензоату натрію 0,5-0,9 мг/100 мл.

Розрахунок відсоткового вмісту кофеїн-бензоату натрію для субстанції та вмісту в грамах у готових та екстемпоральних лікарських формах проводили методом стандарту, використовуючи розчин кофеїн-бензоату натрію, субстанція якого відповідає вимогам [4].

Методика кількісного визначення кофеїн-бензоату натрію у субстанції.

Точну наважку субстанції кофеїн-бензоату натрію (приблизно 0,0200 г) розчиняють у 4 мл дистильованої води в мірній колбі ємністю 100 мл, доводять ацетоном до позначки, перемішують. 1 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу на 25 мл, додають 4 мл насиченого розчину 4-нітробензоїлгідрозон-1,4-бензохіноноксиму (близько 0,2 %) в ацетоні та через 3 хв доводять до позначки ацетоном. Паралельно готують стандартний розчин кофеїн-бензоату натрію, для чого 0,0200 г кофеїн-бензоату натрію (точна наважка) розчиняють у 4 мл дистильованої води у мірній колбі ємністю 100 мл, доводять ацетоном до позначки,

перемішують. Відбирають 1 мл одержаного розчину і виконують операцію, як наведено вище для субстанції.

Оптичну густину досліджуваного і стандартного розчинів вимірюють на спектрофотометрі марки СФ-46 при довжині хвилі 560 нм у кюветі з товщиною шару рідини 1 см на фоні розчину, який не містить речовини, що визначається.

Розрахунок відсоткового вмісту кофеїн-бензоату натрію (С%) проводять за формулою:

$$C\% = \frac{A \cdot C_0 \cdot 100 \cdot 25}{A_0 \cdot p \cdot l},$$

де А – оптична густина досліджуваного розчину;

A_0 – оптична густина стандартного розчину;

C_0 – концентрація стандартного розчину, який спектрофотометрують (0,0008 г у 100 мл);

p – наважка субстанції кофеїн-бензоату натрію, г;

l – товщина шару, см.

Результати кількісного визначення кофеїн-бензоату натрію в субстанції наведено в таблиці 1.

Методика кількісного визначення кофеїн-бензоату натрію у готових лікарських формах

1 мл лікарської форми № 1 вміщують у мірну колбу ємністю 100 мл, додають 15 мл дистильованої води, доводять до позначки ацетоном. 5 мл отриманого розчину переносять у мірну колбу ємністю 25 мл, додають 1 мл дистильованої води, доводять до позначки ацетоном. Для лікарської форми № 2 точну наважку (табл. 2) вміщують у мірну колбу ємністю 100 мл, додають 4 мл дистильованої води, доводять до позначки ацетоном. При аналізі лікарської форми № 3 допоміжні речовини заважають визначенню, тому їх попередньо відділяють. Для цього точну наважку розчиняють у дистильованій воді в мірній колбі ємністю 50 мл, фільтрують. 5 мл одержаного розчину вміщують у мірну колбу ємністю 100 мл і доводять до позначки ацетоном. Далі діють, як у методиці кількісного визначення кофеїн-бензоату натрію в субстанції, починаючи зі слів: "1 мл одержаного розчину переносять...".

Розрахунок вмісту кофеїн-бензоату натрію в грамах для таблеток та грамах на 1 мл розчину для ін'єкцій проводять за формулою:

$$X = \frac{A}{A_0 \cdot p} \cdot K,$$

де А – оптична густина досліджуваного розчину;

A_0 – оптична густина стандартного розчину;

p – наважка лікарської форми, г;

K – розрахункові коефіцієнти з урахуванням розведень та концентрації розчину стандартного зразка (0,0008 г у 100 мл); значення – 0,1; 0,00482; 0,07848 відповідно.

Результати кількісного визначення кофеїн-бензоату натрію в лікарських формах наведено в таблиці 2.

Кількісному визначенню кофеїн-бензоату натрію за реакцією з 4-нітробензоілгідрозон-1,4-бензохіноноксимом в умовах, наведених вище, не заважають допоміжні речовини, що входять до складу лікарських форм.

Методика кількісного визначення кофеїн-бензоату натрію в екстемпоральних лікарських формах

Точну наважку лікарської форми кофеїн-бензоату натрію (табл. 3) розчиняють у 4 мл дистильованої води в мірній колбі ємністю 100 мл, доводять ацетоном до позначки, перемішують. Далі діють, як у методиці кількісного визначення кофеїн-бензоату натрію в субстанції, починаючи зі слів: "1 мл одержаного розчину переносять...". Розрахунок вмісту кофеїн-бензоату натрію в грамах в лікарських формах проводять за формулою, що наведена для готових лікарських форм.

Розрахункові коефіцієнти становлять 0,0066; 0,0033; 0,007; 0,01; 0,005; 0,003; 0,0074; 0,011; 0,0084; 0,0104; 0,007 відповідно.

Результати кількісного визначення кофеїн-бензоату натрію в екстемпоральних лікарських формах наведено в таблиці 3.

Лікарські речовини, що входять до складу екстемпоральних лікарських форм, не заважають кількісному визначенню кофеїн-бензоату натрію.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз отриманих результатів кількісного визначення кофеїн-бензоату натрію за розробленими методиками свідчить про їх правильність та відтворюваність.

ВИСНОВКИ. 1. Запропоновано спектрофотометричний метод кількісного визначення кофеїн-бензоату натрію за реакцією з 4-нітробензоілгідрозон-1,4-бензохіноноксимом.

2. Розроблену методику застосовано для визначення вмісту кофеїн-бензоату натрію в субстанції та 6-ти екстемпоральних лікарських формах.

3. Запропоновані методики характеризуються високою чутливістю, простотою виконання і можуть бути застосовані в лабораторіях Державної інспекції за контролем якості ліків та ВТК хіміко-фармацевтичних заводів.

Таблиця 1 – Результати кількісного визначення кофеїн-бензоату натрію в субстанції

Наважка, г	A	A ₀	C%	Метрологічні характеристики
0,0214	0,558	0,520	100,3	$\bar{X} = 99,81$
0,0144	0,372		99,36	$S^2 = 0,1489$
0,0186	0,484		100,1	$S = 0,3859$
0,0204	0,527		99,36	$S_{\bar{x}} = 0,1575$
0,0130	0,338		100,0	$\Delta x = 0,9918$
0,0222	0,576		99,79	$\Sigma = 0,9936$

Таблиця 2 – Результати кількісного визначення кофеїн-бензоату натрію в готових лікарських формах

Лікарська форма	Наважка	Метрологічні характеристики				
		\bar{X}	$S^2 \cdot 10^{-5}$	$S \cdot 10^{-3}$	$S_{\bar{x}} \cdot 10^{-3}$	$x \cdot 10^{-2}$
Кофеїн-бензоат натрію 10% розчин для ін'єкцій серія 26602	1 мл	0,1002	0,2502	1,582	0,6456	0,4066
Кофеїн-бензоат натрію табл. по 0,2 серія 80803	0,0151-0,0271	0,2041	2,805	5,296	2,162	1,361
“Кофальгін” табл. складу: анальгін 0,3 кофеїн-бензоату натрію 0,05 серія 90903	0,981-1,766	0,0499	0,0429	0,6555	0,2675	0,1689

Таблиця 3 – Результати кількісного визначення кофеїн-бензоату натрію в екстемпоральних лікарських формах

Лікарська форма	Наважка	Метрологічні характеристики				
		\bar{X}	$S^2 \cdot 10^{-5}$	$S \cdot 10^{-3}$	$S_{\bar{x}} \cdot 10^{-3}$	$x \cdot 10^{-2}$
Фенобарбіталу 0,03 Кофеїн-бензоату натрію 0,1 Цукру 0,2	0,0413-0,0740	0,1000	2,0560	1,439	0,5853	0,3698
Кофеїн-бензоату натрію 0,5 Глюкози 10,0 води дист. до 200,0	1 мл	0,002539	0,0208	0,0457	0,0187	0,0117
Кофеїн-бензоату натрію 0,1 Амідопірину 0,25	0,0438-0,0788	0,1003	3,5667	1,8886	0,7708	0,4854
Кофеїн-бензоату натрію 1,0 Амідопірину 2,0 Гексаметилентетраміну 2,0 води дист. до 100,0	1 мл	0,009982	0,01438	0,1199	0,04894	0,03081
Кофеїн-бензоату натрію 0,5 Гексаметилентетраміну 2,0 води дист. до 100,0	1 мл	0,00500	0,004048	0,06363	0,02597	0,01635
Кофеїн-бензоату натрію 0,05 Цукру 0,1	0,0375-0,0675	0,05031	0,6948	0,8336	0,3402	0,2142
Фенобарбіталу 0,02 Амідопірину 0,25 Кофеїн-бензоату натрію 0,1	0,0463-0,0833	0,1004	2,3389	1,5290	0,6242	0,3929
Кофеїн-бензоату натрію 0,05 Гексаметилентетраміну 0,25 Стрептоциду 0,25	0,1375-0,2475	0,0503	0,8377	0,9152	0,3736	0,2352
Фенобарбіталу 0,02 Кофеїн-бензоату натрію 0,1 Фенацетину 0,3	0,0525-0,0945	0,1014	2,5587	1,5990	0,6529	0,4109
Ментолу 0,02 Кофеїн-бензоату натрію 0,2 Фенацетину 0,3	0,0325-0,0585	0,2023	0,1919	4,3810	1,7880	1,1259
Кофеїн-бензоату натрію 0,05 Анальгін 0,3	0,0875-0,1575	0,05023	1,1496	1,0722	0,4376	0,2755

ЛІТЕРАТУРА

1. Баранова Н.В., Таптунов В.В., Торопин В.Н. и др. Определение кофеин-бензоата натрия и тимола в экстенпоральных лекарственных формах // Четвёртая межинститутская областная конференция молодых учёных и специалистов-медиков по актуальным вопросам теоретической и практической медицины: Тезисы докл. – Запорожье, – 1990. – С. 6-7.
2. Булатов М.И., Калинин И.П. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа. – 5-е изд. – Л.: Химия, 1986. – 432 с.
3. Вергейчик Е.Н., Саушкина А.С., Лихота Т.Т. и др. Количественный анализ таблеток кофеин-бензоата натрия методом производной спектрофотометрии // Фармация. – 1986. – № 5. – С. 43-47.
4. Государственная фармакопея СССР. – 10-е изд. – М.: Медицина, 1968. – 1079 с.
5. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. – 14-е изд. – М.: ООО "Изд. Новая Волна", 2000. – Т.2. – 121 с.
6. Муцуева С.Х., Соловей Н.В. Вариант относительного пропуска в количественном определении фенобарбитала, кофеин-бензоата натрия и кодеина в лекарственных формах // Фармация. – 1983. – № 2. – С. 35-39.
7. Харитонов Ю.Я. Аналитическая химия (аналитика): В 2 кн.: Учеб. для вузов. – М.: Высш. шк., 2001. – 1174 с.
8. Weng X. Determination of components of caffeine and sodium benzoate injection by differential derivative spectrophotometry // Yaowu-Fenxi-Zazhi. – 1988. – 8, № 3. – P.187-188.
9. Yuan Z.F., Wang Q., Zhang L.T. Assay of caffeine and sodium benzoate in pharmaceutical injection solutions using multiwavelength absorbance ratio difference spectrophotometry // Guangpuxue-Yu-Guangpu-Fenxi. – 1996. – 16, № 4. – P. 106-110.
10. Zhang Q., Wu L., Liu A. Determination of caffeine and sodium benzoate in injections by TLC-UV spectrophotometry // Yaowu-Fenxi-Zazhi. – 1991. – 11, № 3. – P. 177-179.

ПРИМЕНЕНИЕ 4-НИТРОБЕНЗОИЛГИДРАЗОН-1,4-БЕНЗОХИНОНОКСИМА ДЛЯ АНАЛИЗА КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ С КОФЕИН-БЕНЗОАТОМ НАТРИЯ

А.С. Коржова

ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Предложены спектрофотометрические способы количественного определения кофеин-бензоата натрия на основе реакции с 4-нитробензоилгидразон-1,4-бензохиноноксимом в субстанции, готовых и экстенпоральных лекарственных формах. Способы отличаются высокой чувствительностью и простотой выполнения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кофеин-бензоат натрия, спектрофотометрия, 4-нитробензоилгидразон-1,4-бензохиноноксим.

4-NITROBENZOILHYDRAZON-1,4-BENZOQUINONOXYM APPLICATION FOR THE ANALYSIS OF QUALITY OF DRUGS CONTAINING CAFFEINE-SODIUM BENZOATE

A.S. Korzhova

ZAPORIZHZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

Spectrophotometric methods for quantitative definition of caffeine-sodium benzoate on the basis of reaction with 4-nitrobenzoilhydrizon-1,4-benzoquinonoxym in a substance, ready and extemporal drugs have been offered. They are high-sensitive and simple in performance.

KEY WORDS: caffeine-sodium benzoate, spectrophotometry, 4-nitrobenzoilhydrizon-1,4-benzoquinonoxym.

Отримано 22.03.2004 р.

Адреса для листування: А.С. Коржова, вул. Запорізького Козацтва, 41, кв. 57, Запоріжжя, 69114, Україна.

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ МЕТОДІВ ІЗОЛЮВАННЯ ДИЛТІАЗЕМУ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ

Ю.П. Медведєва, В.С. Бондар

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Досліджено ефективність ізолювання дилтіазему з біологічного матеріалу за допомогою загальновідомих методів О.О. Васильєвої, Стаса-Отто, В.П. Крамаренка та В.А. Карташова. Було встановлено, що метод О.О. Васильєвої дозволяє виділити приблизно 30 % препарату з модельних сумішей дилтіазему з печінкою, метод Стаса-Отто – 7 %, метод В.П. Крамаренка – 20 %, а метод В.А. Карташова – 80 %. Запропоновано ефективні методики ізолювання дилтіазему з біологічного матеріалу за допомогою метанолу та ацетонітрилу, які дають можливість виділити близько 60 та 85 % препарату відповідно.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: дилтіазем, біологічний матеріал, ізолювання, очищення, виявлення, кількісне визначення.

ВСТУП. Дилтіазем (Діакордин, Дилтаїз, Реталзем, Тіазак)-(2S, 3S)-3 ацетилокси-5-[2-(диметиламіно)етил]-2-(4-метоксифеніл)-2,3-дигідро-1,5-бензотіазепін-4(5H)-ОН-гідрохлорид – представник групи блокаторів кальцієвих каналів, похідний бензотіазепіну. Його широко застосовують у сучасній медичній практиці для лікування артеріальної гіпертензії, ішемічної хвороби серця, пароксизмальної суправентрикулярної аритмії [1, 3, 4].

Дилтіазем добре абсорбується із шлунково-кишкового тракту і має виражений ефект першого проходження, за рахунок чого абсолютна біодоступність (порівняно з інтравенозним введенням) складає близько 40 %. Біотрансформація препарату спричиняє утворення декількох метаболітів, з яких основним є дезацетилдилтіазем. Дезацетилдилтіазем також має фармакологічну активність, але у 2,5 раза нижчу. До 80-86 % дилтіазему зв'язується з білками плазми крові (альбуміни, α_1 -кислий глікопротеїн, γ -глобуліни). Близько 73 % прийнятої дози виводиться із сечею протягом 4 діб і близько 18 % – з фекаліями [2, 6, 10].

При оральному застосуванні LD_{50} для мишей та щурів сягає від 415 до 740 мг/кг та від 560 до 810 мг/кг відповідно. Внутрішньовенна доза LD_{50} для цих видів становить 60 і 38 мг/кг відповідно. Доза LD_{50} при оральному використанні для собак – близько 50 мг/кг.

© Ю.П. Медведєва, В.С. Бондар – д.фарм.н., проф., 2004.

Токсична доза для людини не відома. Завдяки інтенсивному метаболізму рівень дилтіазему в крові після прийняття стандартної дози може сильно варіювати, лімітуючи доцільність визначення вмісту препарату в крові у разі інтоксикації [5, 6].

Поширене використання дилтіазему в сучасній кардіологічній практиці призвело до збільшення випадків інтоксикації цим препаратом, зумовлених як самолікуванням, так і спробами суїциду. Це зумовлює необхідність розробки методів якісного та кількісного визначення дилтіазему в організмі та біологічних рідинах [5, 7-9].

Процес виділення препаратів з біологічного матеріалу є одним з найважливіших та найскладніших етапів проведення хіміко-токсикологічного аналізу. У зв'язку з відсутністю в літературі даних про ізолювання дилтіазему з об'єктів біологічного походження різними методами ми поставили за мету наших досліджень вирішити це питання.

Нами було досліджено ефективність виділення дилтіазему з біологічного матеріалу при застосуванні загальноприйнятих у хіміко-токсикологічному аналізі методів: О.О. Васильєвої (ізолювання водою, підкисленою кислотою оксалатною), Стаса-Отто (ізолювання етанолом, підкисленим кислотою оксалатною), В.П. Крамаренка (ізолювання водою, підкисленою кислотою сульфатною), В.А. Кар-

ташова (ізолювання ацетоном), а також можливість розробки більш експресної та ефективної 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 дилтіазему з водних розчинів залежно від рН середовища і природи органічних розчинників, що застосовуються в хіміко-токсикологічному аналізі. Було встановлено, що найпридатнішим розчинником для виділення дилтіазему з водних розчинів є хлороформ, який при рН 6,0-9,0 екстрагує приблизно 99 % препарату. Діетиловий ефір не екстрагує дилтіазем з водних розчинів, які мають рН 2, тому його ми використовували для очищення водних витяжок, що містили препарат.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для ізолювання дилтіазему з біологічного матеріалу ми використовували модельні суміші печінки трупа людини, яка загинула від травми, що не знала гнільних змін, з даним препаратом.

До 10 г подрібненої печінки додавали 1,0 мл водного розчину дилтіазему, що містив 300 мкг препарату, ретельно перемішували і залишали на 24 год. Паралельно ставили контрольний дослід.

Ізолювання дилтіазему з біологічного матеріалу проводили за допомогою методів О.О. Васильєвої, Стаса-Отто, В.П. Крамаренка, В. А. Карташова а також розроблених нами методик виділення препарату з біологічного матеріалу метанолом та ацетонітрилом.

Методика ізолювання дилтіазему з біологічного матеріалу за допомогою метанолу

До 5 г подрібненого трупного матеріалу (печінка людини, яка загинула від травм) додавали 1,00 мл водного розчину дилтіазему з концентрацією 300 мкг/мл, ретельно перемішували і залишали на добу.

Через добу до кожної проби додавали по 5 мл метанолу і залишали на 30 хв при періодичному помішуванні. Далі флакони з сумішшю струшували на автоматичному струшувачі протягом 10 хв, потім центрифугували 5 хв при 2500 об./хв. Надосадову рідину зливали крізь невеликий ватний тампон в інший флакон. Операцію ізолювання повторювали ще 3 рази. Метанольні витяжки об'єднували, розчинник випаровували на водяній бані при температурі 40-50 °С. Сухий залишок розчиняли в 20 мл 0,5 М розчину кислоти хлоридної, і екстрагували домішки діетиловим ефіром 2 рази по 10 мл. Органічну фазу відділяли і надалі не досліджували. До водної фази додавали по краплях

25 % розчин амоніаку до рН 8-9 і екстрагували хлороформом 2 рази по 10 мл. Хлороформні екстракти об'єднували та випарювали при кімнатній температурі насухо. Сухий залишок досліджували на дилтіазем. Паралельно проводили контрольний дослід.

Методика ізолювання дилтіазему з біологічного матеріалу за допомогою ацетонітрилу

До 5 г подрібненого трупного матеріалу (печінка людини, що загинула від травм) додавали 1,00 мл водного розчину дилтіазему з концентрацією 300 мкг/мл, ретельно перемішували і залишали на добу.

Через добу до кожної проби додавали 5 мл ацетонітрилу, старанно перемішували і струшували на автоматичному струшувачі протягом 10 хв. Далі центрифугували 5 хв при 2500 об./хв. Надосадову рідину зливали крізь невеликий ватний тампон в інший флакон. Операцію ізолювання повторювали ще 3 рази. До об'єднаних ацетонітрильних витяжок додавали 20 мл 0,5 М розчину кислоти хлоридної, і екстрагували домішки діетиловим ефіром 2 рази по 10 мл. Органічну фазу відділяли і надалі не досліджували. Водно-ацетонітрильну фазу підлужнювали 25 % розчином амоніаку до рН 8-9 і екстрагували хлороформом 2 рази по 10 мл. Хлороформні екстракти об'єднували та випарювали при кімнатній температурі насухо. Сухий залишок досліджували на дилтіазем. Паралельно проводили контрольний дослід.

Для виявлення дилтіазему 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 температурі 100 °С протягом 30 хв. На лінію старту скляними капілярами наносили три проби: стандартний розчин дилтіазему в метанолі, 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 методами О.О. Васильєвої або Стаса-Отто та 0,2 г при ізолюванні за методами В.П. Крамаренка, В.А. Карташова і при ізолюванні метанолом та ацетонітрилом.

Використовували систему розчинників "етанол-метанол-25 % розчин амоніаку" (80:10:10). Пластинки піддавали елююванню в камері об'ємом 1000 см³ та зі шляхом пробігу

системи розчинників 7 см і висушували на повітрі. Для проявлення плям застосовували пари йоду та реактив Драгендорфа.

Значення Rf дилтіазему складали 0,69-0,71. У парах йоду плями препарату забарвлювали в бурій колір, а під дією реактиву Драгендорфа – в оранжево-бурій. Зазначені проявники виявляли і плями співекстрактивних речовин. За даних умов хроматографування спостерігали задовільний розподіл плям дилтіазему та співекстрактивних речовин (вони були нижче та вище плям препарату).

Кількісне визначення дилтіазему у витяжках з біологічного матеріалу проводили за допомогою розроблених раніше методів УФ-спектрофотометрії та екстракційної фотометрії з використанням кислотного індикатора метилового оранжевого. Для порівняння застосовували розчини, отримані в контрольних дослідках. Вміст препарату визначали за побудованими раніше градувальними графіками.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати визначень концентрації дилтіазему у витяжках з біологічного матеріалу за допомогою УФ-спектрофотометричного та екстракційно-фотометричного методів наведено в таблиці 1.

Аналіз результатів ізолювання дилтіазему з біологічного матеріалу за допомогою загальноприйнятих методів свідчить про те, що найбільша кількість препарату виділяється за допомогою методу В.А. Карташова і складає

близько 80 %. Використання інших методів дає значно нижчі результати. Так, за методом О.О. Васильєвої можна виділити близько 30 % дилтіазему, за методом В.П. Крамаренка – 18-20 %, а за методом Стаса-Отто – лише 7 %.

За допомогою розроблених модифікованих методик ізолювання дилтіазему з біологічного матеріалу з використанням метанолу та ацетонітрилу можна виділити близько 60 та 85 % препарату відповідно. Таким чином, максимальна кількість дилтіазему ізолюється при застосуванні ацетонітрилу.

Порівняння результатів кількісного визначення дилтіазему у витяжках з біологічного матеріалу методами УФ-спектрофотометрії та екстракційної фотометрії дозволяє зробити висновок, що обидва методи можна використовувати з цією метою.

ВИСНОВКИ. 1. Вивчено умови ізолювання дилтіазему з біологічного матеріалу в модельних сумішах з печінкою за методами О.О. Васильєвої, В.П. Крамаренка, Стаса-Отто та В.А. Карташова.

2. Запропоновано модифіковані методики виділення дилтіазему метанолом та ацетонітрилом, які дозволяють виділити близько 60 та 85 % препарату відповідно.

3. Встановлено, що для визначення вмісту дилтіазему у витяжках з біологічного матеріалу можуть бути використані УФ-спектрофотометричний та екстракційно-фотометричний методи.

Таблиця 1 – Результати ізолювання дилтіазему з біологічного матеріалу (модельні суміші з печінкою) та їх метрологічні характеристики (середнє з 5 визначень, $\alpha=0,95$)

№	Метод ізолювання	Метод аналізу			
		Спектрофотометричний		Екстракційно-фотометричний	
		Виділено дилтіазему, %	Метрологічні характеристики	Виділено дилтіазему, %	Метрологічні характеристики
1	О.О.Васильєвої	32,60	$\bar{X}=32,60; S=0,66;$ $S_x = 0,29;$ $\Delta \bar{X}=\pm 0,82; \varepsilon=\pm 2,52$	30,26	$\bar{X}=30,26; S=1,53;$ $S_x = 0,68;$ $\Delta \bar{X}=\pm 1,90; \varepsilon=\pm 6,27$
2	Стаса-Отто	6,97	$\bar{X}=6,97; S=0,09;$ $S_x = 0,04;$ $\Delta \bar{X}=\pm 0,11; \varepsilon=\pm 1,58$	7,07	$\bar{X}=7,07; S=0,24;$ $S_x = 0,11;$ $\Delta \bar{X}=\pm 0,30; \varepsilon=\pm 4,24$
3	В.П. Крамаренка	20,60	$\bar{X}=20,60; S=0,39;$ $S_x = 0,17;$ $\Delta \bar{X}=\pm 0,48; \varepsilon=\pm 2,33$	18,20	$\bar{X}=18,20; S=0,57;$ $S_x = 0,25;$ $\Delta \bar{X}=\pm 0,71; \varepsilon=\pm 3,90$
4	Ізолювання метанолом	60,55	$\bar{X}=62,27; S=1,20;$ $S_x = 0,54;$ $\Delta \bar{X}=\pm 1,49; \varepsilon=\pm 2,39$	58,53	$\bar{X}=58,53; S=1,49;$ $S_x = 0,67;$ $\Delta \bar{X}=\pm 1,85; \varepsilon=\pm 3,16$
5	Ізолювання ацетонітрилом	85,45	$\bar{X}=86,60; S=1,60;$ $S_x = 0,71;$ $\Delta \bar{X}=\pm 1,98; \varepsilon=\pm 2,29$	84,67	$\bar{X}=85,00; S=1,34;$ $S_x = 0,60;$ $\Delta \bar{X}=\pm 1,66; \varepsilon=\pm 1,95$

ЛІТЕРАТУРА

1. Амосова Е.Н. Применение дилтиазема в лечении и вторичной профилактике у больных с острыми формами ишемической болезни сердца // Укр. мед. часопис. – 1999. – № 2. – С. 97-100.
2. Латогуз І.К., Мала Л.Т., Циганенко А.Я. Клинічна фармакологія. – Харків: Основа, 1995. – Т. 1. – 526 с.
3. Марцевич С.Ю., Зябков Д.С. Верапамил и дилтиазем: фармакологические свойства и применение в кардиологической практике // Мед.-фармацев. вестник. – 1996. – № 3. – С. 23-29.
4. Передерий В.Г., Ткач С.М. Клинические лекции по внутренним болезням. – К., 1998. – Т. 1: Кардиология, ревматология, пульмонология. – 512 с.
5. Amorim S., Dias P., Rocha G. et al. Poisoning with calcium channel blockers – a case report and review of the literature // Rev. Port. Cardiol. – 2001. – **20**, № 12. – P. 1249-1257.
6. Baselt R. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. – California: Chemical Toxicology Institute, Forest City, 2000. – 919 p.
7. Doyon S. Calcium Channel Blocker Overdose // Pharmscript. – 2000. – **23**, № 4. – P.4-5.
8. Quispel R., Baur H. Attempted suicide with sustained release diltiazem // Ned. Tijdschr. Geneesk. – 2001. – **145**, № 19. – P. 918-922.
9. Romano G., Barbera N., Rossito C. et al. Lethal Diltiazem Poisoning // J. Anal. Toxicol. – 2002. – **26**, № 6. – P. 374-377.
10. Yeung P., Feng J. Pharmacokinetics and hypotensive effects of diltiazem in rabbits: Comparison of diltiazem with its major metabolites // J. Pharm. and Pharmacol. – 1998. – **50**, № 1. – P. 1247-1253.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕТОДОВ ИЗОЛИРОВАНИЯ ДИЛТИАЗЕМА ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Ю.П. Медведева, В.С. Бондарь

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Исследовано эффективность изолирования дилтиазема из биологического материала с помощью общеизвестных методов А.А. Васильевой, Стаса-Отто, В.Ф. Крамаренко и В.А. Карташова. Установлено, что метод А.А. Васильевой позволяет выделить около 30 % препарата из модельных смесей дилтиазема с печенью, метод Стаса-Отто – 7 %, метод В.Ф. Крамаренко – 20 %, а метод В.А. Карташова – 80 %. Предложено эффективные методики изолирования дилтиазема из биологического материала с помощью метанола и ацетонитрила, которые дают возможность изолировать около 60 % и 85% препарата соответственно.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: дилтиазем, биологический материал, изолирование, очистка, обнаружение, количественное определение.

INVESTIGATION OF EFFICIENCY OF DILTIAZEM ISOLATION METHODS FROM BIOLOGICAL MATERIAL

Yu.P. Medvedeva, V.S. Bondar

NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

Summary

The efficiency of Diltiazem isolation from biological material with the help of well-known methods by O.O. Vasilyeva, Stas-Otto, V.P. Kramarenko and V.A. Kartashov has been investigated. It was established that O.O. Vasilyeva's method allows to isolate about 30 % of drug from the model mixtures of Diltiazem with liver, Stas-Otto's method – about 7 %, V.P. Kramarenko's – about 20 % and V.A. Kartashov's method – about 80 %. The effective and express Diltiazem isolation methods with the help of methanol and acetonytril have been offered. They make possible to isolate about 60 and 85 % of drug accordingly.

KEY WORDS: Diltiazem, biological material, isolation, purification, revealing, quantitative determination.

Отримано 24.02.2004 р.

Адреса для листування: В.С. Бондар, кафедра токсикологічної хімії, Національний фармацевтичний університет, вул. Блюхера, 4, Харків, 61168, Україна.

ВИВЧЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ МАЗІ НА ГІДРОФІЛЬНІЙ ОСНОВІ З МАГНЕТИТОВИМ КОМПОНЕНТОМ

І.О. Ведерникова, Є.Я. Левітін, Т.О. Онопрієнко, В.Г. Онопрієнко, Е.В. Матюшкін
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ
ХАРКІВСЬКА ДЕРЖАВНА АКАДЕМІЯ ЗАЛІЗНИЧНОГО ТРАНСПОРТУ

У статті представлено комплексний хроматографічний метод якісного та кількісного визначення левоміцетину та метилурацилу (діючих речовин) у мазі. Вивчено магнітні властивості магнетитової мазі на гідрофільній основі (аналог-мазь "Левомеколь"). Намагніченість насичування мазі становить 14,3 Гс при концентрації магнетиту 19 %.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: магнетитова мазь на гідрофільній основі, левоміцетин, метилурацил, намагнічуваність.

ВСТУП. У Національному фармацевтичному університеті було створено мазь багатосп'ямованої дії на гідрофільній основі з магнетитовим компонентом – так звану магнетитову мазь [5, 6]. Вона належить до магнітних лікарських форм (МЛФ) та містить у своєму складі магнітний наповнювач – магнетит (Fe_3O_4). Аналогом магнетитової мазі є мазь "Левомеколь" [1], яка добре виявила себе при місцевому лікуванні інфікованих ран. Розроблена магнетитова мазь у своєму складі містить левоміцетин, метилурацил, суміш поліетиленоксидів, додатково було введено диметилсульфоксид та магнетит як магнітний наповнювач при співвідношенні компонентів (%):

Магнетит	19,0
Левоміцетин	1,0
Метилурацил	4,0
Диметилсульфоксид	10,0
Поліетиленоксид-400	52,8
Поліетиленоксид-1500	13,2
	100

Наявність магнетитового компонента виправдана одночасно з декількох сторін. Він, з одного боку, посилює фармакологічну активність мазі, а з іншого – забезпечує можливість її застосування як традиційним шляхом, так і з використанням своїх особливих магнітних властивостей [5, 10].

Одним з найбільш важливих етапів при створенні нового лікарського засобу є його стандартизація, тобто вибір найбільш важливих

показників, що визначають якість препарату впродовж усього періоду придатності.

При вивченні основних показників тотожності та кількісного вмісту діючих речовин МЛФ виникають ускладнення, які зумовлені наявністю магнетитового компонента та відсутністю нормативної документації з визначення якісних характеристик МЛФ.

Метою роботи стала розробка методики повного хімічного контролю за левоміцетином та метилурацилом з урахуванням наявності магнетитового компонента, а також підбір методики контролю за магнітними характеристиками мазі.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Згідно з ТФС на мазь "Левомеколь", для кількісного визначення левоміцетину та метилурацилу використовують методики окисно-відновного титрування. Але їх в оригінальному вигляді не можна застосувати для аналізу цих субстанцій у складі магнетитової мазі. По-перше, при визначанні левоміцетину титрометричним методом існує контроль діючої речовини за фрагментом її структури, що не відповідає за біологічну дію; по-друге, наявність магнетитової мазі, складовою якої є магнетит (Fe_3O_4), створює умови для появи додаткової кількості продуктів окисно-відновного титрування, що призводять до завищених результатів аналізу. Необхідно було запропонувати більш селективні та відтворювальні методики з використанням сучасного обладнання. Такими виявились хроматографічні методи, зокрема високоефек-

тивна рідинна хроматографія, яку застосовують для виявлення та кількісного визначення лікарських препаратів у фармацевтичному аналізі [7]. Використання цього методу дозволяє визначати левоміцетин та метилурацил без їх попереднього розділення з водно-спиртової витяжки мазі.

Хроматографічний аналіз проводили на рідинному хроматографі Міліхром А-02 з мікроколонкою розміром 2×75мм, яка була наповнена сорбентом з неполярною фазою – Nucleosil-100-5, С18, температура колонки – 40 °С, швидкість рухомої фази (лінійний градієнт ацетонітрилу та розчину літію перхлорату зі збільшенням відсотка ацетонітрилу від 0 до 80 за 20 хв) – 0,15 мл/хв [8, 9].

Готували розчини стандартних зразків левоміцетину (0,3 %), метилурацилу (0,08 %) та розчин досліджуваної мазі (0,2 %) у суміші етилового спирту 95 % та води (1:1). По 1 мкл розчинів хроматографували на рідинному хроматографі з УФ-детектором при довжині хвилі 210 нм, отримуючи не менше 5 хроматограм для кожного розчину.

Серед магнітних характеристик за параметр контролю було обрано величину намагніченості насичування магнетитової мазі. Вивчаючи її залежність від напруги зовнішнього магнітного поля, будували криві намагніченості (петлі магнітного гістерезиса), визначали величину магнітного насичування (намагніченості насичування). За побудованими кривими намагніченості можна оцінювати величину об'ємної концентрації магнітного наповнювача в МЛФ, розподіл часток магнітного наповнювача за розміром.

Намагніченість насичування магнетитової мазі визначали мостовим методом за допомогою вимірювача магнітного потоку Ф-190 з електромагнітом [11, 12].

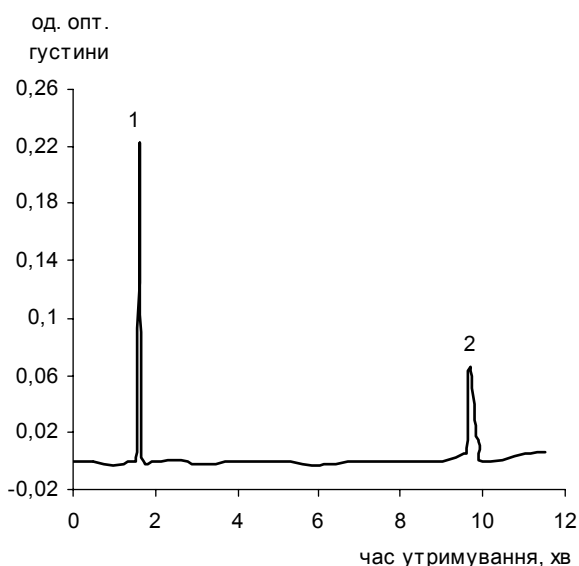
Зразок у трубці з кварцового скла було розміщено у центрі однієї з катушок. При висмикуванні зразка з міжполюсного простору змінювався магнітний потік, що реєструвався. Напруженість накладеного зовнішнього поля визначали за допомогою вимірювача магнітної індукції.

Попередньо було проведено градування приладу за допомогою зразка сферичного монокристалу $BaFe_{12}O_{19}$ з відомим значенням магнітного моменту. За результат аналізу брали середнє арифметичне двох паралельних визначень, межі розходжень між якими не більші 0,2 Гс.

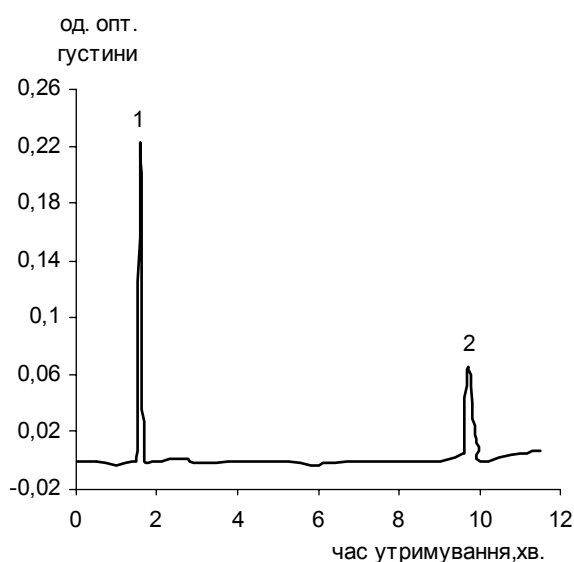
РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Хроматограми дослідженого розчину магнетитової мазі та розчину робочого стандартного зразка левоміцетину і метилурацилу наведено на рисунку 1.

Як видно з наведених хроматограм, терміни затримки піків дослідженого розчину магнетитової мазі збігаються з термінами затримки піків розчину робочого стандартного зразка левоміцетину та метилурацилу, що є якісною характеристикою тотожності левоміцетину та метилурацилу.

Вміст левоміцетину або метилурацилу (X) в препараті обчислювали відносно середніх значень площ піків із хроматограм дослідженого розчину (S_x) та розчинів стандартних зраз-



Хроматограма розчину робочого стандартного зразка левоміцетину та метилурацилу



Хроматограма досліджуваного розчину магнетитової мазі

Рис. 1. Хроматограми розчинів (1 – пік метилурацилу, 2 – пік левоміцетину).

ків левоміцетину або метилурацилу (S_0) з урахуванням маси наважки мазі (m_0), левоміцетину та метилурацилу в розчинах стандартних зразків (m_i) і коефіцієнта розведення (P) за формулою:

$$X = P \frac{S_i m_0}{S_0 m_i}$$

Кількісний вміст левоміцетину та метилурацилу, який було розраховано, становив, відповідно, $(1,0 \pm 0,1)$ і $(4,0 \pm 0,4)$ мг/г, що повністю підтверджується рецептурними даними. Відсутність домішок встановлювали за наявністю інших зон затримки піків на хроматограмі. Підібрані параметри хроматографування забезпечують виконання всіх умов, які дозволяють одержати достовірні результати: високий ступінь розділення піків левоміцетину та метилурацилу, низьке значення відносного стандартного відхилення для площ піків [3].

За результатами дослідження намагніченості магнетитової мазі на гідрофільній основі було побудовано криву залежності намагніченості (I , Гс) зразка мазі від напруги накладеного зовнішнього магнітного поля (H , кЕ) (рис. 2).

Згідно з кривою, спочатку відбувалося поступове збільшення намагніченості мазі зі зростанням величини зовнішнього поля. Але з часом ця величина досягала максимального значення – намагніченості насичування. Експериментальне значення величини намагніченості насичування становило 14,3 Гс при концентрації магнетиту 19 %.

Для порівняння було розраховано теоретичне значення намагніченості насичування (I) магнетитової мазі, яка залежить від об'ємної концентрації магнетиту (φ) та величини намагніченості насичування (I_m):

$$I = \varphi \cdot I_m$$

Для розрахунку величини об'ємної концентрації магнетиту визначали густину мазі (1,308 г/мл) за методикою дослідження густини твердих жирів та воску [4], величину намагніченості насичування дрібнодисперсного магнетиту було визначено попередньо – 340 Гс, густина магнетиту становила 5,2 г/мл.

Теоретичне значення величини намагніченості насичування зразка магнетитової мазі

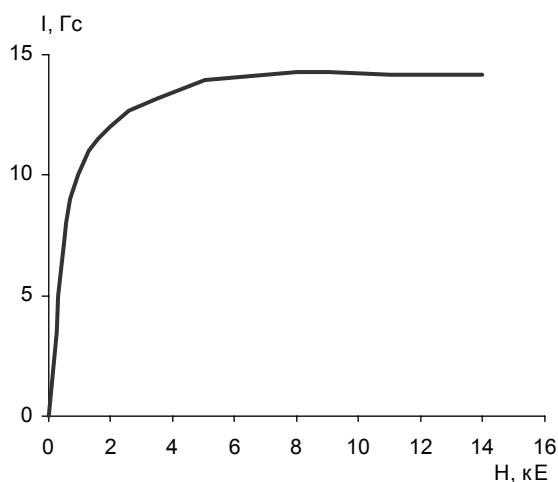


Рис. 2. Крива намагніченості магнетитової мазі.

становило 14,7 Гс та відрізнялось від експериментального на 1,3 %. Маючи на увазі, що намагніченість мазі є функцією кількісного вмісту магнітного наповнювача та його природи, збіг значень теоретичної та експериментально визначеної величин намагніченості насичування може бути критерієм якісного та кількісного значень магнітного наповнювача.

ВИСНОВКИ. 1. Для стандартизації та оцінки якості магнетитової мазі в процесі виготовлення і зберігання розроблено методику якісного та кількісного визначення левоміцетину та метилурацилу без їх попереднього розділення з водно-спиртової витяжки з використанням високоефективної рідинної хроматографії.

2. Розроблені умови дослідження дозволяють одержувати піки левоміцетину та метилурацилу на хроматограмі з високими статистичними характеристиками, що дає можливість з високою точністю визначати їх тотожність та кількісний вміст у магнетитовій мазі.

3. Обґрунтовано вибір методики контролю за магнітними характеристиками мазі при дослідженні її намагніченості.

4. Теоретична та експериментальна величини намагніченості насичування магнетитової мазі відрізняються на 1,3 %, що свідчить про зберігання кількісного та якісного складу магнетитової мазі, а отже, про хімічну індеферентність магнетиту до інших компонентів мазі.

ЛІТЕРАТУРА

1. Безуглая Е.П., Белов С.Г., Гулько В.Г. и др. Теория и практика местного лечения гнойных ран / Под ред. Б.М. Даценко. – К.: Здоров'я, 1995. – 384 с.
2. ГОСТ 8.377-80. Материалы магнитомякие. –

Введ. с 01.07.1981. – М., 1980. – 21 с.

3. Государственная Фармакопея СССР. – 11-е изд. – Вып. 1: Общие методы анализа. – М.: Медицина, 1987. – 336 с.

4. Державна Фармакопея України. – 1-ше вид. – Харків: PIPER, 2001. – 556 с.
5. Пат. 47059А, Україна, МПК А61К9/06, А61N2/06. Спосіб лікування інфікованих ран / Є.Я. Левітін, Т.О. Онопрієнко, І.О. Ведерникова, Д.І. Дмитрієвський, І.Л. Дикий (Україна); Нац. фарм. Академія України. – № 2001074841; Заявл. 10.07.01; Опубл. 17.06.02, Бюл. № 6. – 4 с.
6. Пат. 59838А, Україна, МПК А61К9/06, А61N2/06. Магнетитова мазь багатоспрямованої дії на гідрофільній основі / Є.Я. Левітін, Т.О. Онопрієнко, І.О. Ведерникова, Д.І. Дмитрієвський, І.Л. Дикий (Україна); Нац. фарм. Університет України. – № 20021210457; Заявл. 10.07.01; Опубл. 15.09.03, Бюл. № 9. – 6 с.
7. Bakhtiar R., Tse F.L. High-throughput chiral liquid chromatography / tandem mass spectrometry // Rapid Commun. Mass Spectrom. – 2000. – **14**, № 13. – P. 1128-1135.
8. Berzas Nevado J.J., Villasenor, Contento Salcedo A.M. Determination of fluoxetine and clomipramine in pharmaceutical formation by capillary gas chromatography // J. Chromatogr. Sci. – 2000. – **38**, № 5. – P. 200-206.
9. Glass R.I., Johnson M.B. Determination of D-fenfluramine in plasma, brain tissue using HPLC // J. Liq. Chromat. and Relat. Technol. – 1996. – № 11. – P. 1777-1784.
10. Muller-Schulte D., Fussl F. Base ferromagnetic fluid // Scientific and clinical applications of magnetic carriers / Ed. Hafeli et al. – New York: Plenum Press, 1997. – P. 517-526.
11. Pshenichnikov A.F., Mekhonoshin V.V. Magnetic Fluid and Contrast Media // J. Magn. Mater. – 2000. – № 213. – P. 357-359.
12. Pshenichnikov A.F., Mekhonoshin V.V., Lebedev A.V. Formation of Uniform Spherical Magnetic Particles by Crystallization from Ferrous Hydroxide Gels // J. Magn. Mater. – 1996. – № 161. – P. 94-99.

ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ МАЗИ НА ГИДРОФИЛЬНОЙ ОСНОВЕ С МАГНЕТИТОВЫМ КОМПОНЕНТОМ

И.А. Ведерникова, Е.Я. Левитин, Т.А. Оноприенко, В.Г. Оноприенко, Э.В. Матюшкин
 НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРКОВ
 ХАРЬКОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ ЖЕЛЕЗНОДОРОЖНОГО ТРАНСПОРТА

Резюме

В статье представлен комплексный хроматографический метод качественного и количественного определения левомицетина и метилурацила (действующих веществ) в мази. Изучены магнитные свойства магнетитовой мази на гидрофильной основе (аналог-мазь "Левомеколь"). Намагниченность насыщения мази равна 14,3 Гс при концентрации магнетита 19 %.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: магнетитовая мазь на гидрофильной основе, левомицетин, метилурацил, намагниченность.

THE STUDY OF PROPERTIES OF THE OINTMENT ON THE HYDROPHILIC BASE WITH THE MAGNETIC COMPONENT

I.O. Vedernykh, Ye.Ya. Levitin, T.O. Onopriyenko, V.G. Onopriyenko, E.V. Matyushkin
 NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV
 KHARKIV STATE ACADEMY OF RAIL-WAY TRANSPORT

Summary

The complex method for qualitative and quantitative chromatographic analysis of methyluracil and laevomycetin (active ingredients) is represented in this article. The magnetic properties of ointment with the magnetic component on the hydrophilic base (analog "Laevomekol") were studied. Magnetizing level of ointment saturation is 14,3 Gs if the concentration of magnetite component is 19 %.

KEY WORDS: magnetic ointment on the hydrophilic base, laevomycetinum, methyluracil, magnetizing level.

Отримано 05.02.2004 р.

Адреса для листування: Є.Я. Левітін, пр. Людвіга Свободи, 46, кв. 221, Харків, 61204, Україна.