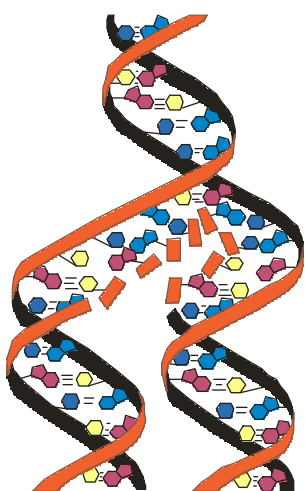


Академія медичних наук України  
Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського  
Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця  
Українська Академія наук

# 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*

# MEDICAL CHEMISTRY

SCIENTIFIC JOURNAL

**3** TOM 6  
2004

Номер присвячено матеріалам  
Міжнародної науково-практичної конференції  
“Сучасний стан і проблеми експериментальної  
та клінічної медицини”

11-12 листопада 2004 р., Тернопіль

- ❖ *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., Гайова Л.В., Бобкова Л.С. (Київ)  
МОЛЕКУЛЯРНЕ МОДЕЛЮВАННЯ ВПЛИВУ  
ІЗОНІАЗИДУ НА БІОХІМІЧНУ ДІЮ ВІТАМІНУ В<sub>6</sub>  
В ОРГАНІЗМІ 8
- Нестерова Н.О., Коваленко С.І., Беленічев І.Ф.,  
Карпенко О.В., Сідорова І.В. (Запоріжжя)  
ФОРМУВАННЯ КОМБІНАТОРНОЇ БІБЛІОТЕКИ  
ХІНАЗОЛІН-4-ІЛ-ГІДРАЗОНІВ З АНТИОКСИДНОЮ  
АКТИВНІСТЮ 14
- Фіра Л.С., Гонський Я.І. (Тернопіль) ВИКОРИС-  
ТАННЯ ФОСФАТИДИЛХОЛІНОВИХ ЛІПОСОМ  
ДЛЯ КОРЕКЦІЇ МЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕНЬ ЗА  
УМОВ ОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ ОРГАНІЗМУ 22
- Сибірня Н.О., Люта М.Я., Бурда В.А., Біронт Н.В.,  
Федорович А.М., Дудок К.П. (Львів) ВПЛИВ  
СИСТЕМИ "L-АРГІНІН:НО" НА ДИНАМІКУ ВМІСТУ  
ЛІГАНДНИХ ФОРМ ТА СПЕКТРАЛЬНІ  
ХАРАКТЕРИСТИКИ ГЕМОГЛОБІНУ ЗА УМОВ  
ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1-ГО ТИПУ 25
- Осип Ю.Л., Камінський В.О., Луцик М.Д.,  
Стойка Р.С. (Львів) ВПЛИВ СКЛАДУ РОЗЧИННИКА  
ТА ІНТЕРКАЛЮЮЧИХ ЛІГАНДІВ НА КОНФОР-  
МАЦІЙНУ СТАБІЛЬНІСТЬ МОЛЕКУЛИ ДНК 30
- Юрченко П.О., Пентюк О.О. (Вінниця) ВПЛИВ  
ІНДУКТОРІВ ТА ІНГІБІТОРІВ ЦИТОХРОМУ P450  
НА ФАРМАКОЛОГІЧНИЙ ЕФЕКТ ТА МЕТАБОЛІЗМ  
КЕТАМІНУ В ЩУРІВ 34
- Дмухальська Є.Б., Ястремська С.О., Криницька І.Я.,  
Бекус І.Р. (Тернопіль) ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ЗМІНИ  
ВМІСТУ МОЛЕКУЛ СЕРЕДНЬОЇ МАСИ У  
ФРАКЦІЯХ ПЛАЗМИ КРОВІ ЩУРІВ З КАДМІЙ-  
ГІДРАЗІНОВИМ ТОКСИКОЗОМ ТА ЗА КОРЕКЦІЇ  
ДИПЕПТИДОМ 38
- Кліщ І.М. (Тернопіль) СТАН НАДФН-ЗАЛЕЖНОЇ  
СИСТЕМИ ЛІПОПЕРЕОКСИДЕННЯ У МІКРОСО-  
МАХ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ЗА УМОВ  
ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ ТЕТРАХЛОРЕТАНОМ 41
- Мудра А.Є. (Тернопіль) ВМІСТ ЗАЛІЗА І МАГНІЮ  
У ПЕЧІНЦІ КОРОПА ЗА ЗАБРУДНЕННЯ  
СЕРЕДОВИЩА СОЛЯМИ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ 42
- Пелешенко Г.Б., Коваль О.А., Іванов А.П., Шевцова А.І.  
(Дніпропетровськ) ЗМІНА СТУПЕНЯ ДЕГРАДАЦІЇ  
ФІБРОНЕКТИНУ ПРИ ГОСТРОМУ Q ІНФАРКТІ  
МІОКАРДА ТА ПІД ДІЄЮ АНТИТРОМБОТИЧНИХ  
ПРЕПАРАТІВ МІОКАРДА 48
- Білець М.В., Тарасенко Л.М. (Полтава) ЕМОЦІЙНИЙ  
СТРЕС НА ТЛІ НЕДОСТАТНОСТІ ГОНАД  
ПІДСИЛЮЄ РОЗПАД НЕКОЛАГЕНОВИХ БІЛКІВ  
КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ РІЗНИХ ВІДДІЛІВ СКЕЛЕТА 51
- Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Федорович І.П.,  
Федевич Ю.М., Колінковський О.М. (Львів) ЗМІНИ  
КОНЦЕНТРАЦІЇ NO<sub>2</sub>- В БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ  
ПРИ ЗАХВОРЮВАННІ НА РАК ШЛУНКА 55

## Contents

### ORIGINAL INVESTIGATIONS

- Hubsy Y.I., Gayeva L.V., Bobkova L.S. (Kyiv)  
MOLECULAR MODELLING OF ISONIAZID  
INFLUENCE ON BIOCHEMICAL ACTION OF  
VITAMIN B<sub>6</sub> IN THE ORGANISM 8
- Nesterova N.A., Kovalenko S.I., Belenichev I.F.,  
Karpenko O.V., Sidorova I.V. (Zaporizhzhia)  
FORMATION OF COMBINATORIAL LIBRARY  
QUINAZOLINE-4-YL-HYDRAZONES WITH  
ANTIOXIDANT ACTIVITY 14
- Fira L.S., Gonsky Ya.I. (Ternopil) USE OF  
PHOSPHATIDILCHOLINE LIPOSOMES FOR  
CORRECTION OF METABOLIC VIOLATIONS UNDER  
CONDITIONS OF TOXIC DEFEAT OF ORGANISM 22
- Sybirna N.O., Lyuta M.Ya., Burda V.A., Biront N.V.,  
Fedorovych A.M., Dudok K.P. (Lviv) EFFECT OF  
"L-ARGININE:NO" SYSTEM UPON DYNAMICS  
OF THE CONTENT OF LIGAND FORMS AND  
SPECTRAL CHARACTERISTICS OF HEMOGLOBIN  
AT TYPE 1 DIABETES MELLITUS. 25
- Osy Yu.L., Kaminsky V.O., Lutsyk M.D., Stoyka R.S.  
(Lviv) EFFECT OF SOLVENT COMPOSITION AND  
INTERCALARY LIGANDS UPON CONFORMATIVE  
STABILITY OF DNA MOLECULE 30
- Yurchenko P.O., Pentiuk O.O. (Vinnytsia) THE INFLU-  
ENCE OF CYTOCHROME P450 AND INDUCTION  
INHIBITORS ON PHARMACOLOGICAL EFFECT AND  
METABOLISM OF KETAMINE IN RATS 34
- Dmukhalska Ye.B., Yastremska S.O., Krynytska I.Ya.,  
Becus I.R. (Ternopil) AGE PECULIARITIES OF  
CHANGE OF MEDIUM MASS MOLECULES  
CONTENT IN FRACTIONS OF RAT BLOOD PLASMA  
WITH CADMIUM-HYDRAZINE TOXICOSIS AND AT  
CORRECTION BY DIPEPTIDE 38
- Klishch I.M. (Ternopil) THE STATE OF NADPH-  
DEPENDENT SYSTEM OF LIPOPEROXIDATION  
IN MICROSOMAS OF RAT LIVER OF DIFFERENT  
AGE UNDER CONDITIONS OF TOXIC DEFEAT BY  
TETRACHLORMETHANE 41
- Mudra A.Ye. (Ternopil) IRON AND MAGNESIUM CON-  
TENT IN CARP LIVER IN THE CONDITIONS OF ENVI-  
RONMENT POLLUTION BY HEAVY METAL SALTS 42
- Peleshenko H.B., Koval' O.A., Ivanov A.P., Shevtsova A.I.  
(Dnipropetrovsk) THE ALTERATION OF DEGREE OF  
FIBRONECTIN DEGRADATION AT ACUTE Q  
MYOCARDIAL INFARCTION AND UNDER THE  
ACTION OF ANTITHROMBOTIC DRUGS 48
- Bilets M.V., Tarasenko L.M. (Poltava) EMOTIONAL  
STRESS AGAINST A BACKGROUND OF THE  
GONAD INSUFFICIENCY INCREASES THE BREAK-  
UP OF NON-COLLAGENOUS BONE TISSUE  
PROTEINS OF DIFFERENT SKELETAL ZONES 51
- Sklyarov O.Ya., Fartushok N.V., Fedorovych I.P.,  
Fedevych Yu.M., Kolinkovsky O.M. (Lviv) CHANGES IN  
NO<sub>2</sub>-LEVEL IN BIOLOGICAL FLUIDS AT GASTRIC  
CANCER. 55

<i>Воробець Д.З.</i> (Львів) КОРЕЛЯЦІЯ МІЖ СТАНОМ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ТА РУХЛИВІСТЮ СПЕРМАТОЗОЇДІВ ПРИ ЕКСКРЕТОРНО-ТОКСИЧНІЙ ФОРМІ ЧОЛОВІЧОЇ НЕПЛІДНОСТІ	58	<i>Vorobets D.Z.</i> (Lviv) CORRELATION BETWEEN STATUS OF ANTIOXIDATIVE SYSTEM AND SPERMATOZOA MOTILITY AT MEN WITH EXCRETORY-TOXIC FROM OF INFERTILITY
<i>Старикович Л.С., Чайка Я.П., Кондратюк М.О., Надюк З.О., Трикуленко О.В., Климишин Н.І., Дацюк Л.О., Паук Г.М., Старанко У.В., Стойка Р.С.</i> (Львів) АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА ТА АКТИВНІСТЬ ОКРЕМИХ ЕНЗИМІВ ОБ-МІНУ ВУГЛЕВОДІВ У ЛІКВІДАТОРІВ АВАРІЇ НА ЧАЕС	62	<i>Starykovych L.S., Chaika Ya.P., Kondratyuk M.O., Nadyuk Z.A., Trykulenko O.V., Klymyshyn N.I., Datsyuk L.O., Pauk G.M., Staranko U.V., Stoika R.S.</i> (Lviv) ANTI-OXIDANT SYSTEM AND ACTIVITY OF SPECIFIC ENZYMES OF CARBOHYDRATE METABOLISM IN LIQUIDATORS OF CHORNOBYL ACCIDENT
<i>Столяр О.Б., Грубінко В.В., Зінковська Н.Г., Мудра А.Є., Міщук О.В.</i> (Тернопіль) ІНТЕГРАЛЬНИЙ ПОКАЗНИК АНТИОКСИДАНТНО-ПРООКСИДАНТНОГО СТАНУ ОРГАНІЗМУ ЯК ІНСТРУМЕНТ БІОМОЛЕКУЛЯРНОГО МОНІТОРИНГУ	66	<i>Stolyar O.B., Grubinko V.V., Zinkovska N.G., Mudra A.Y., Mischuk O.V.</i> (Ternopil) INTEGRATIVE INDEX OF ANTIOXIDANT-PROOXIDANT STATE OF ORGANISM AS A TOOL OF BIOMOLECULAR MONITORING
<i>Кравченко Н.О., Львова А.Б., Виноградова С.В., Шуть І.В.</i> (Харків) КЛІНІЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРОЯВУ СОЛЕЧУТЛИВОЇ ТА РЕЗИСТЕНТНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ ЗАЛЕЖНО ВІД ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА АНГІОТЕНЗИНПЕРЕТВОРЮВАЛЬНОГО ФЕРМЕНТУ	69	<i>Kravchenko N.O., Lvova A.B., Vynogradova S.V., Shoot I.V.</i> (Kharkiv) CLINICAL AND BIOCHEMICAL FEATURES OF SALT-SENSITIVE AND RESISTANT HYPERTENTION DISPLAY IN DEPENDENCE ON ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME GENE POLYMORPHISM
<i>Лутай Н.В., Бразалук О.З., Хворостенко М.І.</i> (Дніпропетровськ) ВИЗНАЧЕННЯ ПЛАЗМОВОГО ФІБРОНЕКТИНУ ПРИ ПАТОЛОГІЯХ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ	72	<i>Lutay N.V., Brazaluk O.Z., Khvorostenko M.I.</i> (Dnipropetrovsk) DETECTION OF PLASMA FIBRONECTIN AT THYROID PATHOLOGIES
<i>Кравченко В.М.</i> (Харків) ВПЛИВ НОВОЇ СИНТЕТИЧНОЇ АНТИТИРЕОЇДНОЇ СПОЛУКИ НА ДИНАМІКУ ВМІСТУ ХОЛЕСТЕРИНУ В КРОВІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН	75	<i>Kravchenko V.M.</i> (Kharkiv) INFLUENCE OF THE NEW SYNTHETIC ANTITHYROID PREPARATION ON THE DYNAMICS OF CHOLESTEROL LEVEL IN BLOOD OF THE EXPERIMENTAL ANIMALS
<i>Клименко А.О., Сенюта Л.М., Цимбаліста О.Л.</i> (Івано-Франківськ) ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПОКАЗНИКІВ ВТОРИННОЇ ТОКСИЧНОЇ АВТОАГРЕСІЇ У НЕМОВЛЯТ ІЗ УСКЛАДНЕНИМ ПЕРЕБІГОМ ПНЕВМОНІЇ	78	<i>Klymenko A.O., Senjuta L.M., Tsymbalista O.L.</i> (Ivano-Frankivsk) COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF SECONDARY TOXIC AUTOAGGRESSION PARAMETERS AT INFANTS WITH COMPLICATED CURRENT OF PNEUMONIA
<i>Тарасенко Л.М., Непорада К.С.</i> (Полтава) ЗАЛЕЖНІСТЬ МЕТАБОЛІЧНИХ ЗМІН У ТКАНИНАХ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ВІД СТРЕСОСТІЙКОСТІ ЩУРІВ	82	<i>Tarasenko L.M., Naporada K.S.</i> (Poltava) DEPEDENCE OF METABOLIC CHANGES IN TISSUES OF SALIVARY GLANDS IN STRESS RESISTANT RATS
<i>Кобилінська Л.І., Терлецька О.І., Гжегоцький М.Р.</i> (Львів) СПІВВІДНОШЕННЯ АКТИВНОСТІ СИСТЕМ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ТА ПРОЦЕСІВ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ У ЩУРІВ ЗА УМОВ АДАПТАЦІЇ ДО ГІПОКСІЇ В ІНТЕРВАЛЬНОМУ РЕЖИМІ	85	<i>Kobylinska L.I., Terletska O.I., Gzhegoty M.R.</i> (Lviv) CORRELATION BETWEEN THE ACTIVITY OF ANTIOXIDANT DEFENCE AND LIPID PEROXIDATION SYSTEMS IN RATS AT ADAPTATION TO HYPOXIA IN INTERVAL REGIME
<i>Кучменко О.Б., Петухов Д.М., Донченко Г.В.</i> (Київ) ПОКАЗНИКИ БІОЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ КЛІТИН ІНТАКТНИХ ТВАРИН ПРИ ВВЕДЕННІ ПОПЕРЕДНИКІВ І МЕДІАТОРІВ БІОСИНТЕЗУ УБІХІНОНУ	88	<i>Kuchmenko O.B., Petukhov D.M., Donchenko H.V.</i> (Kyiv) INDICES OF BIOENERGETIC METABOLISM OF CELLS OF INTACT ANIMALS UNDER EFFECT OF PRECURSORS AND MEDIATORS OF UBIQUINONE BIOSYNTHESIS
<i>Ушакова Г.О., Козубенко Н.В., Кобеляцький Ю.Ю.</i> (Дніпропетровськ) АКТИВНІСТЬ ГЛІКОЗИДАЗ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ТА МОЗКУ ЩУРІВ У ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНИЙ ПЕРІОД	91	<i>Ushakova H.O., Kozubenko N.V., Kobelyatsky Yu.Yu.</i> (Dnipropetrovsk) GLYCOSIDASE ACTIVITY IN BLOOD SERUM AND BRAIN OF RATS DURING POSTOPERATIVE PERIOD
<i>Воробець З.Д., Кімакович О.В.</i> (Львів) АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ ГЛУТАТІОНОВОЇ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЛІМФОЦИТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ПРИ ДІЇ ПІРЕНЗЕПІНУ	95	<i>Vorobets Z.D., Kimakovych O.V.</i> (Lviv) ACTIVITY OF ENZYMES OF GLUTATHIONE ANTIOXIDANT SYSTEM OF PERIPHERAL BLOOD LIMPLOCYTES UNDER PIRENZEPINE INFLUENCE
<i>Петрунь Л.М., Крисюк І.П., Михайловський В.О.</i> (Київ) ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ ДЕЯКИХ ФЕРМЕНТІВ ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ ДІЙ У ТКАНИНАХ ЩУРІВ ЗА ХОЛОДОВОГО СТРЕСУ	98	<i>Petrun L.M., Krysyuk I.P., Mykhailovsky V.O.</i> (Kyiv) PECULIARITIES OF FUNCTIONING OF SOME ENZYMES OF PRO- AND ANTIOXIDANT ACTION IN RAT TISSUES UNDER THE COLD STRESS
<i>Ерстенюк Г.М.</i> (Івано-Франківськ) СТАН ЛІГАНДНИХ ФОРМ ГЕМОГЛОБІНУ ЩУРІВ ЗА УМОВ КАДМІЄВОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ	101	<i>Ersteniuk H.M.</i> (Ivano-Frankivsk) STATE OF LIGAND FORMS OF HEMOGLOBIN IN RATS DURING CADMIUM INTOXICATION

Самохіна Л.М. (Харків) ВПЛИВ КВЕРЦЕТИНУ НА АКТИВНІСТЬ ХІМАЗИ, ТОНІНУ ТА ЕЛАСТАЗИ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ІНТОКСИКАЦІЇ ХЛОРИДОМ КОБАЛЬТУ	104	Samokhina L.M. (Kharkiv) QUERCETIN INFLUENCE ON CHYMASE, TONIN AND ELASTASE ACTIVITIES IN RATS AT INTOXICATION BY COBALT CHLORIDE
Лянна О.Л., Чорна В.І. (Дніпропетровськ) ЕНДОГЕННИЙ ІНГІБІТОР ЦИСТЕІНОВОГО КАТЕПСИНУ L З МОЗКУ ЛЮДИНИ	107	Lyanna O.L., Chorna V.I. (Dnipropetrovsk) ENDOGENOUS INHIBITOR OF CYSTEINE CATHEPSIN L FROM HUMAN BRAIN
Вороніна Л.М., Загайко А.Л., Самохін А.О., Огай Ю.О. (Харків, Ялта) ВПЛИВ ВИНОГРАДНИХ ВИН ТА ЇХ КОМПОНЕНТІВ НА ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ, КІЛЬКІСТЬ ОКИСНЮВАЛЬНИХ МОДИФІКАЦІЙ БІЛКІВ ТА АКТИВНІСТЬ КСАНТИНОКСИДАЗИ ПРИ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОМУ СТРЕСІ У ЩУРІВ	110	Voronina L.M., Zagayko A.L., Samokhin A.O., Ogay Y.O. (Kharkiv, Yalta) INFLUENCE OF GRAPE WINES AND THEIR COMPONENTS ON LIPID PEROXIDATION, AMOUNT OF PROTEIN OXIDATIVE MODIFICATIONS AND XANTHINE OXIDASE ACTIVITY UNDER IMMOBILIZATION STRESS IN RATS
Корда М.М., Ярошенко Т.Я. (Тернопіль) ВПЛИВ ІНГІБІТОРА ІНДУЦИБЕЛЬНОЇ СИНТАЗИ ОКСИДУ АЗОТУ N-(3-(АМІНОМЕТИЛ)БЕНЗИЛ)АЦЕТАМІДИНУ НА ГЕПАТОТОКСИЧНІСТЬ АЛІЛОВОГО СПИРТУ	114	Korda M.M., Yaroshenko T.Ya. (Ternopil) THE EFFECT OF INHIBITOR OF INDUCIBLE SYNTHASE OF NITRIC OXIDE N-(3-(AMINOMETHYL)BENZYL)ACETAMIDINE ON HEPATOTOXICITY OF ALLYL ALCOHOL
Гольцев А.М., Овсянніков С.Є., Козлова Ю.О., Бабенко М.М., Нікітченко Ю.В. (Харків) ІНТЕНСИВНІСТЬ МЕТАБОЛІЧНИХ ПРОЦЕСІВ ОРГАНІЗМУ В ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО ЕНЦЕФАЛОМІЄЛІТУ	117	Holtsev A.M., Ovsyannikov S.E., Kozlova Yu.O., Babenko M.M., Nikitchenko Yu.V. (Kharkiv) INTENSITY OF ORGANISM'S METABOLIC PROCESSES IN DYNAMICS OF EXPERIMENTAL ALLERGIC ENCEPHALOMYELITIS DEVELOPMENT
Харченко О.А., Лихолат О.А., Шантир Л.І. (Дніпропетровськ) ВПЛИВ ІОНІЗУВАЛЬНОГО ОПРОМІНЕННЯ НА РОЗВИТОК БІОХІМІЧНИХ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПОРУШЕНЬ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ БРОНХІТ	120	Kharchenko O.A., Lykholat O.A., Shantyr L.S. (Dnipropetrovsk) INFLUENCE OF IONIZING RADIATION ON DEVELOPMENT OF BIOCHEMICAL AND FUNCTIONAL VIOLATIONS AT THE PATIENTS WITH CHRONIC BRONCHITIS
Волощук Н.І. (Вінниця) МЕТАБОЛІЧНА ДЕТЕРМІНАЦІЯ СТАТЕВИХ ВІДМІННОСТЕЙ У ЗНЕБОЛЮВАЛЬНІЙ ДІЇ ТА ТОКСИЧНОСТІ ПАРАЦЕТАМОЛУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ	123	Voloschuk N.I. (Vinnytsia) METABOLIC DETERMINATION OF SEXUAL DIFFERENCES IN ANALGETIC EFFECT AND TOXICITY OF PARACETAMOL IN EXPERIMENT
Нетюхайло Л.Г., Бабаніна М.Ю., Міщенко А.В. (Полтава) ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ "КРІОХОР" НА РІВЕНЬ МОЛЕКУЛ СЕРЕДНЬОЇ МАСИ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ОПІКОВОЇ ХВОРОБИ	126	Netiuchailo L.G., Babanina M.Y., Mishchenko A.V. (Poltava) INFLUENCE OF PREPARATION "CRYOCHOR" ON THE LEVEL OF MEDIUM-MASS MOLECULES IN CONDITIONS OF EXPERIMENTAL BURN DISEASE
<b>ОГЛЯДИ</b>		<b>REVIEWS</b>
Князева М.В. (Харків) ПРО ВИКЛАДАННЯ БІОХІМІЇ НА МЕДИЧНИХ ФАКУЛЬТЕТАХ В УКРАЇНІ З ПОЗИЦІЙ ЗАРУБІЖНОГО МЕТОДУ PROBLEM-BASED-LEARNING (PBL)	129	Knyazeva M.V. (Kharkiv) ABOUT BIOCHEMISTRY teaching AT MEDICAL DEPARTMENTS IN UKRAINE ACCORDING TO THE PROBLEM-BASED-LEARNING (PBL) METHOD
Кресюн В.Й., Сейфуліна І.Й., Відавська Г.Г., Шемонаєва К.Ф. (Одеса) ПЕРСПЕКТИВИ СТВОРЕННЯ НОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ ОКСИЕТИЛІДЕНДИФОСФОНОВОЇ КИСЛОТИ	133	Kresyun V.Y., Seifulina I.Y., Vidavska G.G., Shemonayeva K.F. (Odessa) PERSPECTIVES OF NEW OXYETHYLIDENDIPHOSPHONE ACID-BASED PHARMACEUTICALS CREATION
<b>КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ</b>		<b>BRIEF REPORTS</b>
Ель Ідріссі А., Журахівська Л.Р., Марінцова Н.Г., Тарас Т.М., Новіков В.П. (Львів, Івано-Франківськ) СИНТЕЗ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ КАРНОЗИНПОХІДНОЇ 1,4-НАФТХОКІНОНУ	139	El Idrissi A., Zhurakhivska L.R., Marintsova N.H., Taras T.M., Novikov V.P. (Lviv, Ivano-Frankivsk) SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF CARNOSINE DERIVATIVE OF 1,4-NAPHTHOQUINONE
Никифорова О.А., Ляшенко В.П. (Дніпропетровськ) ОСОБЛИВОСТІ СПІВВІДНОШЕННЯ КОРТИЗОЛУ ТА ТЕСТОСТЕРОНУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ СПЕЦИФІЧНОГО НАВАНТАЖЕННЯ ХОЛЕСТЕРИНОМ	141	Nikiforova O.A., Lyashenko V.P. (Dnipropetrovsk) PECULIARITIES OF HYDROCORTISOLE AND TESTOSTERON INTERRELATION IN RAT BLOOD SERUM UNDER CONDITIONS OF SPECIFIC LOAD BY CHOLESTEROL
Гоженко А.І., Долوماتов С.І., Бабов Є.Д., Аتماжов І.Д. (Одеса) ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СЛИНИ ПРИ ХРОНІЧНОМУ ПАРОДОНТИТІ	143	Hozhenko A.I., Dolomatov S.I., Babov Ye.D., Atmazhov I.D. (Odessa) DIAGNOSTIC IMPORTANCE OF BIOCHEMICAL INDICES OF SALIVA DURING CHRONIC PARODONTITIS



## ТЕЗИ МАТЕРІАЛІВ КОНФЕРЕНЦІЇ

<i>Ніжанковська О.В.</i> (Київ) ОСОБЛИВОСТІ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ ПРИ СТАРІННІ В СУДИННІЙ СТІНЦІ ТА ПЛАЗМІ КРОВІ ЩУРІВ	146	<i>Посохова К.А., Плосканич Л.Й., Олещук О.М.</i> (Тернопіль) ЕФЕКТИВНІСТЬ ГЛУТАРГІНУ ПРИ ІШЕМІЧНО-РЕПЕРФУЗІЙНОМУ ПОШКОДЖЕННІ ПЕЧІНКИ	159
<i>Бондаренко Л.Б., Гайдай Г.Л.</i> (Київ) ВПЛИВ КАЛЬЦИТРИОЛУ НА ВРСН-ФРАГМЕНТИ КОЛАГЕНУ КУРЧАТ	147	<i>Сопель О.М.</i> (Тернопіль) ВПЛИВ ГІСТИДИНАТУ МІДІ НА МЕТАБОЛІЗМ ОКСИДУ АЗОТУ В НИРКАХ ПРИ ОТРУЄННІ БЛІДОЮ ПОГАНКОЮ	160
<i>Кавок Н.С., Вакула В.М., Калінін В.Г., Карпенко Н.О., Яременко Ф.Г.</i> (Харків) ПОРІВНЯННЯ АНТИОКСИДАНТНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ СПОЛУК У МОДЕЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ	148	<i>Ніколаєва В.В.</i> (Тернопіль) ВПЛИВ ГЛУТАРГІНУ ТА ПІРАЦЕТАМУ НА ТОЛЕРАНТНІСТЬ ДО ФІЗИЧНОГО НАВАНТАЖЕННЯ ПРИ ГОСТРОМУ ОТРУЄННІ МОНООКСИДОМ ВУГЛЕЦЮ	161
<i>Кавок Н.С., Вакула В.М., Калінін В.Г., Яременко Ф.Г., Карпенко Н.О.</i> (Харків) ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИРАДИКАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ПОХІДНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІВ З АНТИТИРЕОЇДНОЮ АКТИВНІСТЮ	149	<i>Куртяк Б.М., Янович В.Г.</i> (Львів) БІЛКОВИЙ І ЛІПІДНИЙ СКЛАД КРОВІ КОРІВ ПРИ ЕНДОМЕТРИТАХ	162
<i>Шаяхметова Г.М., Бережна Л.Г., Коваленко В.М., Вороніна А.К., Волошина О.С., Блажчук І.С.</i> (Київ) ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ МОЖЛИВОСТІ ЗНИЖЕННЯ ГЕПАТОТОКСИЧНОСТІ ІЗОНІАЗИДУ ПРИ ПОВТОРНОМУ ВВЕДЕННІ	150	<i>Россіхін В.В., Яковенко М.Г., Єфімов Д.О.</i> (Харків) РІВЕНЬ ПРОСТАТОСПЕЦИФІЧНОГО АНТИГЕНУ І МОРФОЛОГІЧНА СТРУКТУРА ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ	163
<i>Захаренко М.О., Тулицька О.М.</i> (Київ) ЗАЛЕЖНІСТЬ ЕЛЕКТРОЛІТНОГО СКЛАДУ СЕРЦЯ ПЛОДІВ ВІД АНАЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ У ВАГІТНИХ ТВАРИН	151	<i>Влізло В.В., Вербицький П.І.</i> (Львів) ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК МІЖ ГУБЧАСТОПОДІБНОЮ ЕНЦЕФАЛОПАТІЄЮ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ТА НОВИМ ВАРІАНТОМ ХВОРОБИ КРЕЙТЦФЕЛЬДТА-ЯКОБА У ЛЮДЕЙ	164
<i>Бондаренко Л.Б., Вороніна А.К., Шаяхметова Г.М., Коваленко В.М.</i> (Київ) КОРИГУЮЧИЙ ВПЛИВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПОЛІВІТАМІННОЇ КОМПОЗИЦІЇ НА МЕТАБОЛІЗМ ЛІПІДІВ ТА МЕМБРАНИ КЛІТИН ПЕЧІНКИ ПРИ ОТРУЄННІ ПАРАЦЕТАМОЛОМ НА ФОНІ ХРОНІЧНОГО АЛКОГОЛІЗМУ	152	<i>Висоцький І.Ю.</i> (Суми) ВПЛИВ КВЕРЦЕТИНУ НА РІВЕНЬ ЦИКЛІЧНИХ НУКЛЕОТИДІВ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОЇ ГЕПАТОПАТІЇ	165
<i>Коренева Є.М.</i> (Харків) ВПЛИВ НЕОНАТАЛЬНОЇ ГІПЕРГОНАДОТРОПІЗАЦІЇ НА СТАТЕВУ СИСТЕМУ ДОРΟΣЛИХ ТВАРИН	153	<i>Князева М.В., Бабаєва О.І.</i> (Харків) БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ РІЗНОЇ ЛОКАЛІЗАЦІЇ ПРИ СТРЕСІ В ЧАСОВОМУ АСПЕКТІ	166
<i>Клевета Г., Чайка Я.</i> (Львів) КОРИГУЮЧИЙ ВПЛИВ КОРОТКОЛАНЦЮГОВОГО ПРЕПАРАТУ ВІТАМІНУ Е НА ІНТЕНСИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ЗА ДІЇ ІОНІЗУЮЧОГО ОПРОМІНЕННЯ	154	<i>Корчинська О.С.</i> (Львів) ВПЛИВ ОРГАНІЧНИХ БЛОКАТОРІВ ТРАНСПОРТУ КАТІОНІВ КАЛЬЦІО НА ІНТЕНСИВНІСТЬ СКОРОЧЕННЯ КОЛАГЕНОВОГО ГЕЛЮ ЕМБРІОНАЛЬНИМИ ФІБРОБЛАСТАМИ ЛІНІЇ NHI-3T3 ПРИ ДІЇ ТРАНСФОРМУЮЧОГО ФАКТОРА РОСТУ β-ТИПУ	167
<i>Дудок К.П., Мороз О.М., Влох І.Й., Влох О.Р., Гринчишин Н.М., Особа М.М.</i> (Львів) ВПЛИВ ДОВГОТРИВАЛОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ НА ВМІСТ МОЛЕКУЛ СЕРЕДНЬОЇ МАСИ У ПЛАЗМІ КРОВІ ЩУРІВ	155	<i>Завелевич М.П., Сєвко О.Л., Фільченков О.О.</i> (Київ) АКТИВАЦІЯ КАСПАЗИ-3 ТА ІНДУКЦІЯ АПОПТОЗУ КЛІТИН МТ-4 Т-ЛІМФОБЛАСТНОЇ ЛЕЙКЕМІЇ ЛЮДИНИ ПІД ВПЛИВОМ РЕСВЕРАТРОЛУ	168
<i>Александрова Н.А., Залеток С.П.</i> (Київ) ВМІСТ ПОЛІАМІНІВ У СЕЧІ ХВОРИХ, ПРООПЕРОВАНИХ З ПРИВОДУ РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ, ТА ЇХ ВИЖИВАННЯ	156	<i>Афанасенко О.В., Губський Ю.І.</i> (Київ) АНТИОКСИДАНТНІ ТА МЕМБРАНОТРОПНІ ВЛАСТИВОСТІ N-ВМІСНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІВ У РЕАКЦІЯХ ПЕРЕКИСНОЇ МОДИФІКАЦІЇ ЛІПІДІВ І БІЛКІВ	169
<i>Губський Ю.І., Задоріна О.В., Яніцька Л.В.</i> (Київ) ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНІ МЕХАНІЗМИ ТОКСИЧНОЇ ЗАГИБЕЛІ КЛІТИН ПЕЧІНКИ ТА ГОЛОВНОГО МОЗКУ	157	<i>Яніцька Л.В., Губський Ю.І., Кучмеровська Т.М.</i> (Київ) АКТИВНІСТЬ СУКЦИНАТДЕГІДРОГЕНАЗИ МОЗКУ ЩУРІВ ЗА КОРОТКОЇ ЕКСПОЗИЦІЇ ДИХЛОРЕТАНУ: ЕФЕКТ НІКОТИНАМІДУ	170
<i>Сологуб Л.І., Богданов Г.О., Лучка І.В., Герасимів М.Г.</i> (Львів) РОЛЬ ВУГЛЕВОДІВ КОРМІВ У ПРОДУКЦІЇ МЕТАНУ МІКРООРГАНІЗМАМИ РУБЦЯ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ	158	<i>Задоріна О.В., Брюзгіна Т.С., Гладчук А.Б., Прадій Т.П., Васильченко О.А.</i> (Київ) ЗМІНИ ОКСИГЕНАЗНИХ РЕАКЦІЙ ТА ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ЛІПІДІВ У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ХІМІЧНОГО УРАЖЕННЯ	171
		<i>Марчишин С.М.</i> (Тернопіль) ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ ПІРІЮ ПОВЗУЧОГО НА БІЛКОВИЙ ОБМІН	172

<i>Овсяннікова Л.М., Альохіна С.М., Носач О.В. (Київ)</i> МЕТОДИ ОЦІНКИ ПОРУШЕНЬ ОКИСНОВАЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗУ ПРИ ДІЇ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ	173	<i>Фільченков О.О., Завелевич М.П., Храповська Н.Н., Севко О.Л. (Київ)</i> ЕТОПОЗИДИНДУКОВАНИЙ АПО- ПТОЗ ЛЕЙКЕМІЧНИХ КЛІТИН МТ-4 ЛЮДИНИ	179
<i>Кернична І.З., Цибульська О.В., Лихацький П.Г. (Тернопіль)</i> ВИВЧЕННЯ ВМІСТУ БІОФЛАВОНІДІВ У ДЕЯКИХ ВИДАХ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН	174	<i>Кучмеровська Т., Шиманський І., Донченко Г., Великий М., Клименко А. (Київ)</i> МЕХАНІЗМИ ЗДІЙСНЕННЯ НЕЙРОМОДУЛЮЮЧОГО ВПЛИВУ НИКОТИНАМІДАДЕНІН ДИНУКЛЕОТИДУ	180
<i>Харковенко Р.В., Артемчук М.А., Постовітенко К.П., Луцюк М.Б., Салдан Й.Р., Сергієнко О.В. (Вінниця)</i> ВПЛИВ ВІТАМІННО-МІКРОЕЛЕМЕНТНОГО ПРЕПАРАТУ НА РІВЕНЬ ГОМОЦИСТЕЇНУ В ПЛАЗМІ КРОВІ ТА ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В ОЦІ, ВИКЛИКАНІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЮ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЄЮ	175	<i>Зарицька М., Сибірна Н., Дробот Л. (Київ, Львів)</i> РОЛЬ ВОРТМАНІНУ – СЕЛЕКТИВНОГО ІНГІБІТОРА ФОСФОІНОЗИТИД 3-КІНАЗИ – В АКТИВАЦІЇ ТРОМБОЦИТІВ ПРИ ІНСУЛІНОЗАЛЕЖНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ	181
<i>Головка Л.Л. (Тернопіль)</i> СТАН ЗАХИСНИХ СИСТЕМ ОРГАНІЗМУ ЗА УМОВ ПОЄДНАНОЇ ДІЇ СОЛЕЙ КАДМІЮ І СВИНЦЮ ТА НІТРИТУ НАТРІЮ	176	<i>Печенова Т.М., Володіна Т.Т., Бондаренко Л.Б., Попова Н.М. (Київ)</i> ПОРУШЕННЯ СКЛАДУ КОЛАГЕНУ І ТИПУ ПРИ РІЗНИХ СТАДІЯХ ЛЕЙКОЗУ ТА ШЛЯХИ ЇХ КОРЕКЦІЇ У МИШЕЙ ЛІНІЇ АКР-50	182
<i>Великий М.М., Кучмеровська Т.М., Зарицька М.В., Стеченко О.В. (Київ)</i> БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ ПАТОГЕНЕЗУ ПЕРИФЕРИЧНОЇ ДІАБЕТИЧНОЇ НЕЙРОПАТІЇ	177	<i>Сомова О.В., Жукова Т.В. (Харків)</i> СТАН ПРОЦЕСІВ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ В РЕПРОДУКТИВНИХ ОРГАНАХ ЩУРІВ-САМИЦЬ ЗА УМОВ СТРЕСУ ТА ЗАСТОСУВАННЯ МЕЛАТОНІНУ	183
<i>Самохіна Л.М., Ломако В.В., Войтенко О.І., Шило А.В., Щенявська О.М., Зубов П.М. (Харків)</i> КАЛЬПАЇНИ, ХІМАЗА, ТОНІН ТА ЕЛАСТАЗИ ЗА УМОВ ГІПОМЕТАБОЛІЧНОГО СТАНУ В ХОМ'ЯКІВ	178	<i>Дудок К.П., Мороз О.М., Влох І.Й., Влох Р.О., Ільчишин Н.В. (Львів)</i> ВПЛИВ ТРИВАЛОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ НА АКТИВНІСТЬ КАТАЛАЗИ У ПЛАЗМІ, ЕРИТРОЦИТАХ ТА ЦІЛЬНІЙ КРОВІ ЩУРІВ	184

МОЛЕКУЛЯРНЕ МОДЕЛЮВАННЯ ВПЛИВУ ІЗОНІАЗИДУ  
НА БІОХІМІЧНУ ДІЮ ВІТАМІНУ В<sub>6</sub> В ОРГАНІЗМІ

Ю.І. Губський, Л. В. Гайова, Л.С. Бобкова

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ  
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, КИЇВ

*За допомогою квантово-хімічних розрахунків визначено енергетичні характеристики процесів взаємодії піридоксалу з аспарагіноювою кислотою та ізоніазидом. Встановлено, що ізоніазид здатний легше реагувати з піридоксалем з утворенням гідразоніпіридоксалу, ніж аспарагінова кислота з утворенням піридоксаміну. Імовірність легкої взаємодії з піридоксалем свідчить про те, що ізоніазид може конкурувати з амінокислотами, порушуючи їх нормальний метаболізм за участю вітаміну В<sub>6</sub>. Ізоніазид може бути донатором ксенобіотичних фрагментів – ізонікотинової кислоти та гідразидної групи, які здатні призводити до ураження мікобактерій.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ізоніазид, піридоксаль вітамін В<sub>6</sub>, квантово-хімічні розрахунки.

**ВСТУП.** Нестримне зростання захворюваності на туберкульоз у світі, а також поява важких його форм зі смертельними наслідками в країнах Західної Європи, США, Україні та Росії привертають особливу увагу до цієї проблеми. Як відомо, основним лікарським засобом для хіміотерапевтичного лікування даної хвороби залишається ізоніазид. Незважаючи на високу бактеріостатичну активність препарату відносно до мікобактерій туберкульозу, він має два основних недоліки. По-перше, до нього досить швидко розвивається стійкість мікобактерій, по-друге, сам ізоніазид проявляє досить високу токсичність [5-13].

Експериментальні дослідження показали, що вітаміни групи В<sub>6</sub> при сумісному використанні з ізоніазидом здатні суттєво посилювати бактеріостатичну дію останнього і знижувати його токсичні властивості [3]. У зв'язку з цим, виникає питання про молекулярний механізм дії такої композиції.

Як відомо, піридоксальфосфат є коферментом амінотрансфераз (або трансаміназ). За участю піридоксальфосфату перебігає процес переамінування  $\alpha$ -амінокислот, який приводить до утворення нових амінокислот [4,5]. На рисунку 1 наведено схему зазначеного процесу переамінування за участю піридоксаль-5-фосфату.

© Ю.І. Губський – д.мед.н., проф., чл.-кор. АМН України, Л. В. Гайова, Л.С. Бобкова, 2004.

На першій стадії відбувається взаємодія між  $\alpha$ -амінокислотою та піридоксальфосфатом, який має вигляд комплексу з ферментом – амінотрансферазою. У результаті цієї реакції відщеплюється молекула води й утворюється основа Шифа 1. Далі відбувається зворотне перегрупування за рахунок переходу атома водню від залишку амінокислоти до вуглецевого атома піридоксальфосфату. При цьому утворюється основа Шифа 2. Під дією води основа Шифа 2 розпадається з утворенням  $\alpha$ -кетокислоти і піридоксамінофосфату (в комплексі з ферментом).

На другій стадії піридоксамінофосфат реагує з іншою  $\alpha$ -кетокислотою з утворенням основи Шифа 3, перегрупування якої спричиняє утворення основи Шифа 4. При взаємодії з водою основа Шифа 4 розкладається до нової амінокислоти і піридоксальфосфату, який знову зможе вступати в реакцію переамінування. Зазначений процес відбувається за умов наявності  $\alpha$ -амінокислоти,  $\alpha$ -кетокислоти та ферменту, який містить як кофермент піридоксальфосфат.

Нами було зроблено припущення, що ізоніазид (1) за рахунок гідразидної групи здатний втручатись у вищенаведений біогенний процес, призводячи до його порушення. Наявність вільної аміногрупи дозволяє молекулі ізоніазиду взаємодіяти з піридоксальфосфатом за аналогічною схемою (рис. 2). Але в цьому



випадку замість  $\alpha$ -кетокислоти продуктами реакції будуть ізонікотинова та  $\alpha$ -гідразінокарбонова кислоти. Запропонована схема також включає дві стадії.

На першій стадії ізоніазид реагує з піридоксальфосфатом з відщепленням води та утворенням гідразону (1). Перегрупування гідразону (1) призводить до утворення гідразону (2), який, у свою чергу, гідролізується до 4-піридинкарбонової (ізонікотинової) кислоти та гідразонопіридоксальфосфату.

На другій стадії гідразонопіридоксальфосфат реагує з  $\alpha$ -кетокислотою з утворенням гідразону (3), який гідролізується до  $\alpha$ -гідразінокарбонової кислоти та супроводжується вивільненням піридоксальфосфату.

Таким чином, порушується ланцюжок метаболізму за участю піридоксальфосфату.

Можна припустити, що роль ізоніазиду зводиться до джерела гідразидної групи, яка вбудовується в молекули амінокислот, а порушення на молекулярному рівні звичайних перетворень амінокислот призводить до загибелі мікобактерій туберкульозу. З метою перевірки можливості реалізації такої схеми нами

було проведено молекулярне моделювання основних етапів цього процесу квантово-хімічними методами.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** За допомогою спеціалізованої програми "HyperChem Release 7.0" здійснено квантово-хімічні розрахунки енергетичних характеристик – вигреш або поглинання енергії при взаємодії двох молекул або в результаті перегрупування інтермедіату. Для цього спочатку проведено оптимізацію кожної молекули за алгоритмом Парра-Паризера-Попла (PM3), в ході якої молекула досягає свого найнижчого енергетичного рівня [1-3]. Порівнюючи енергії зв'язування кінцевих продуктів реакції з вихідними молекулами, обчислено загальний енергетичний баланс у ході хімічних перетворень. Знак "мінус" свідчить про те, що під час процесу енергія виділяється, а "плюс" – поглинається ззовні.

Для спрощення розрахунків на заміну комплексу піридоксальфосфату з ферментом було використано його частину, зокрема 2-метил-3-окси-4-форміл-5-оксиметипіридин (2) (піридоксаль), як  $\alpha$ -амінокислоту – аспара-

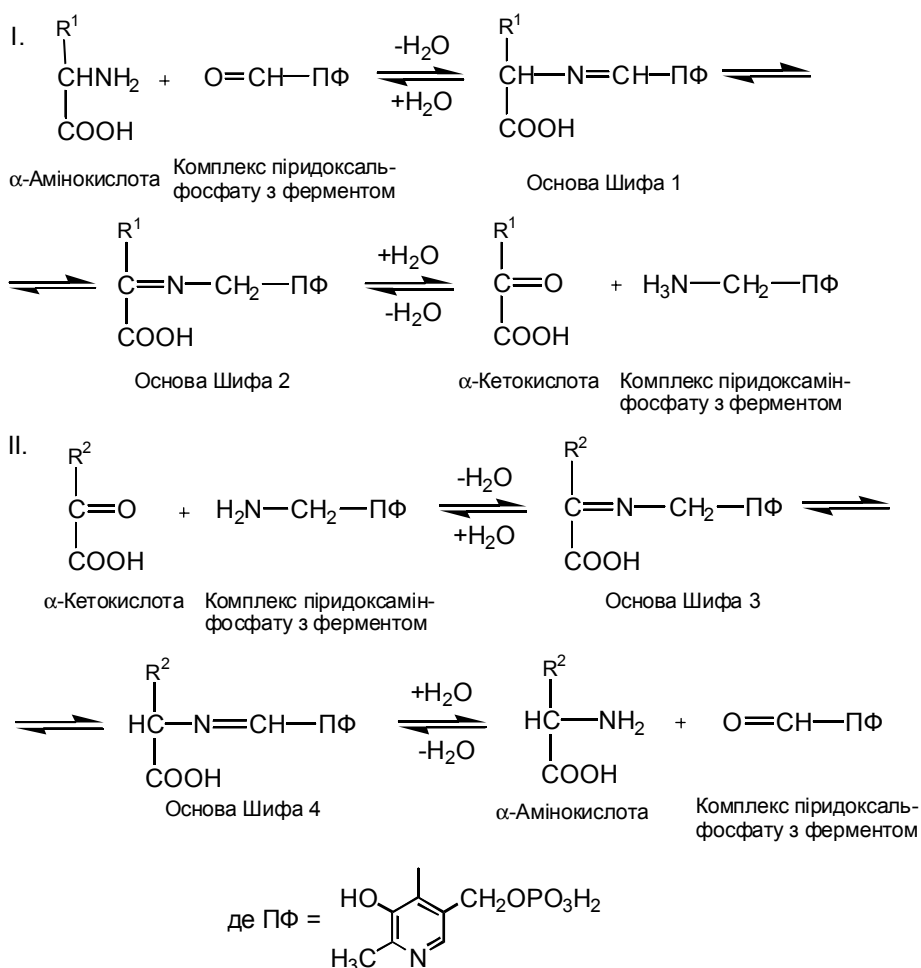


Рис. 1. Схема утворення  $\alpha$ -амінокислоти за участю  $\alpha$ -амінокислоти,  $\alpha$ -кетокислоти та піридоксальфосфату.

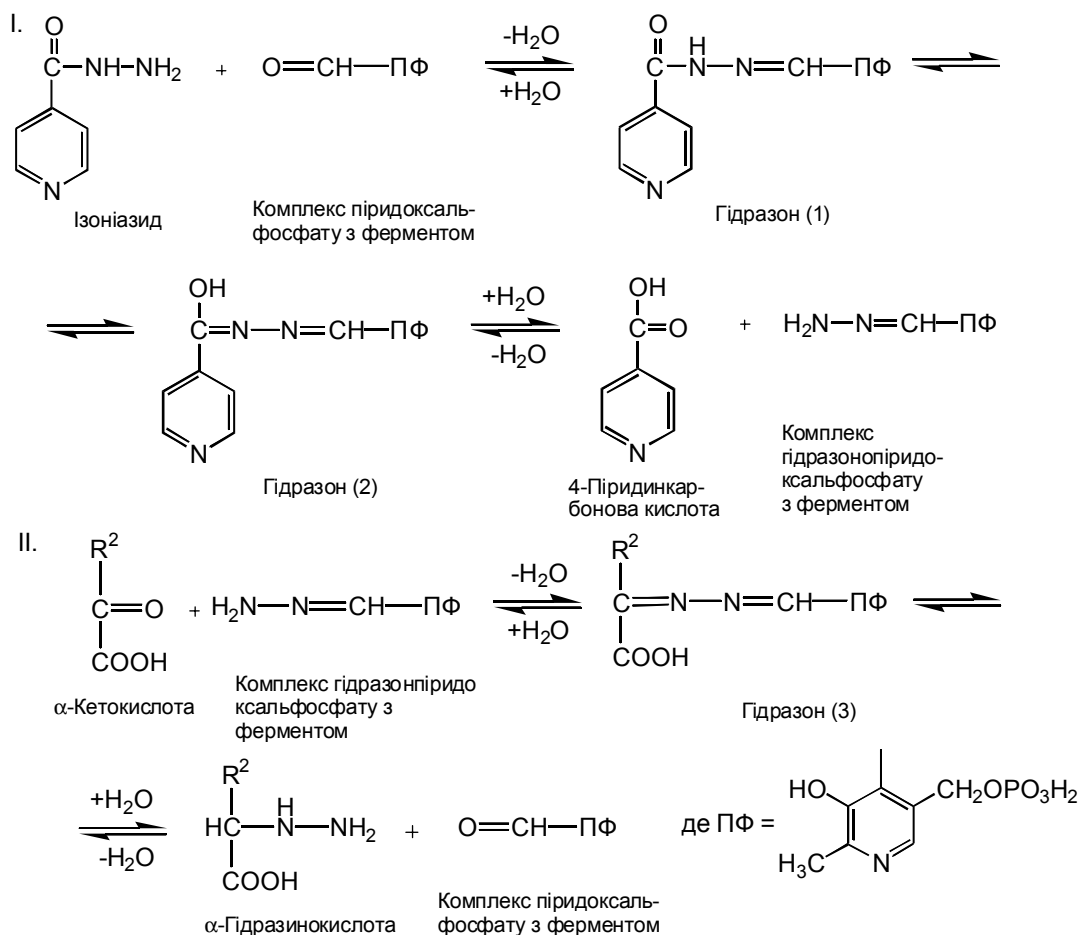


Рис. 2. Схема утворення  $\alpha$ -гідразинокислоти за участю піридоксальфосфату, ізоніазиду та  $\alpha$ -кетокислоти.

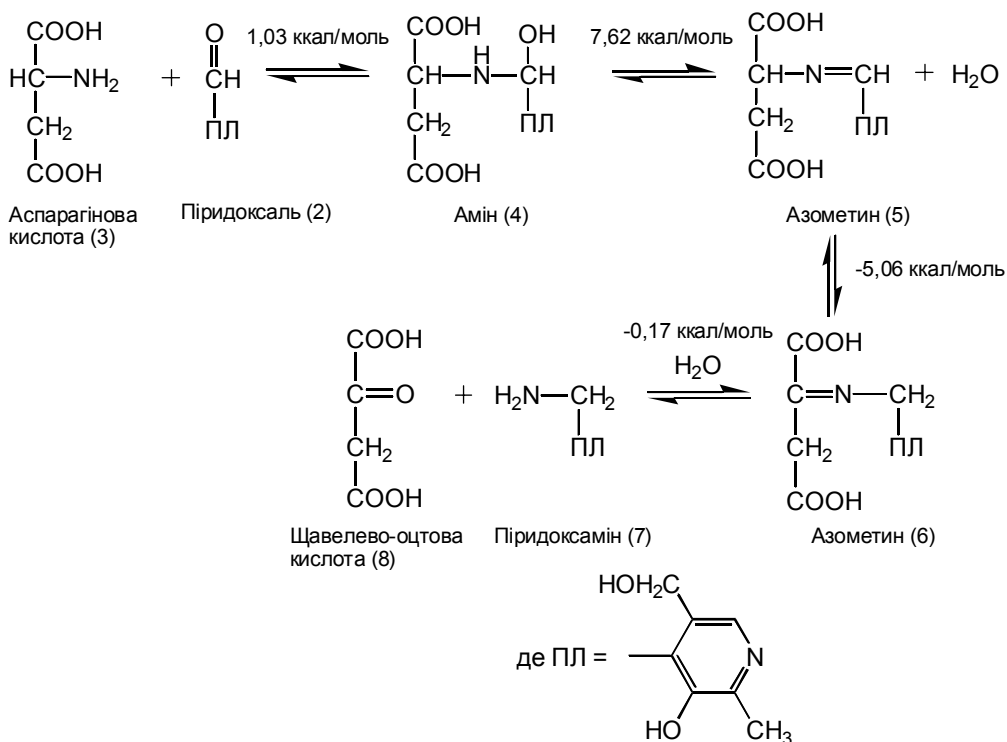


Рис. 3. Взаємодія піридоксалу з аспарагіною кислотою.

гінову кислоту (3), з якою піридоксальфосфат реагує найактивніше [5].  $\alpha$ -Кетокислотою

слугувала щавлевооцтова кислота. Результати проведених розрахунків наведено в таблиці 1.

Таблиця 1 – Енергії зв'язування досліджуваних молекул

Молекула	Енергія зв'язування, ккал/моль	Молекула	Енергія зв'язування, ккал/моль
Ізоніазид (1)	-1771,32	Гідразид (9)	-4004,20
Піридоксаль (2)	-2230,40	Гідразон (10)	-3785,68
Аспарагінова кислота (3)	-1587,11	Гідразон (11)	-3782,27
Амін (4)	-3816,48	Ізонікотиновакислота (12)	-1576,15
Азаметин (5)	-3591,64	Гідразоно-піридоксаль (13)	-2432,09
Азаметин (6)	-3596,70	Гідразон (14)	-3840,18
Піридоксамін (7)	-2409,08	Гідразон (15)	-3620,35
Щавлевооцтова кислота (8)	-1405,01	Гідразон (16)	-1607,87
Вода	-217,22		

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. На рисунку 3 показано енергетичний баланс кожного етапу реакції аспарагінової кислоти (3) з піридоксальем (2). Як видно з наведених даних, приєднання піридоксалу (2) до аспарагінової кислоти (3) на першій стадії потребує 1,03 ккал/моль додатково. Подальше відщеплення води на другій стадії є найбільш енергоємним процесом. Для його проведення потрібно ще 7,62 ккал/моль. Енергетично вигідне перегрупування азометину (5) в азометин (6) відбувається з виділенням -5,06 ккал/моль. Гідроліз останнього до кетокислоти (8) та піридоксаміну (7) супроводжується хоча і слабким, але все ж таки виділенням енергії в кількості -0,17 ккал/моль. Таким чином, в цілому утворення щавлево-

оцтової кислоти з аспарагінової є ергонічним процесом, який потребує 3,42 ккал/моль.

Аналогічний процес за участю ізоніазиду (1) наведено на рисунку 4. Значно основніша аміногрупа гідразидного фрагмента ізоніазиду (1), яка має більш виражені основні властивості, легше реагує з піридоксальем (2), ніж аміногрупа аспарагінової кислоти. На відміну від останньої, в ході приєднання двох молекул енергія не поглинається, а виділяється в кількості -2,48 ккал/моль (рис. 4). Подальше відщеплення води хоча і потребує енергії, але значно меншої, ніж у випадку з аспарагіновою кислотою (1,29 ккал/моль). Міграція протона від атома азоту до атома кисню (гідразони (10) та (11)) супроводжується витратою енергії в

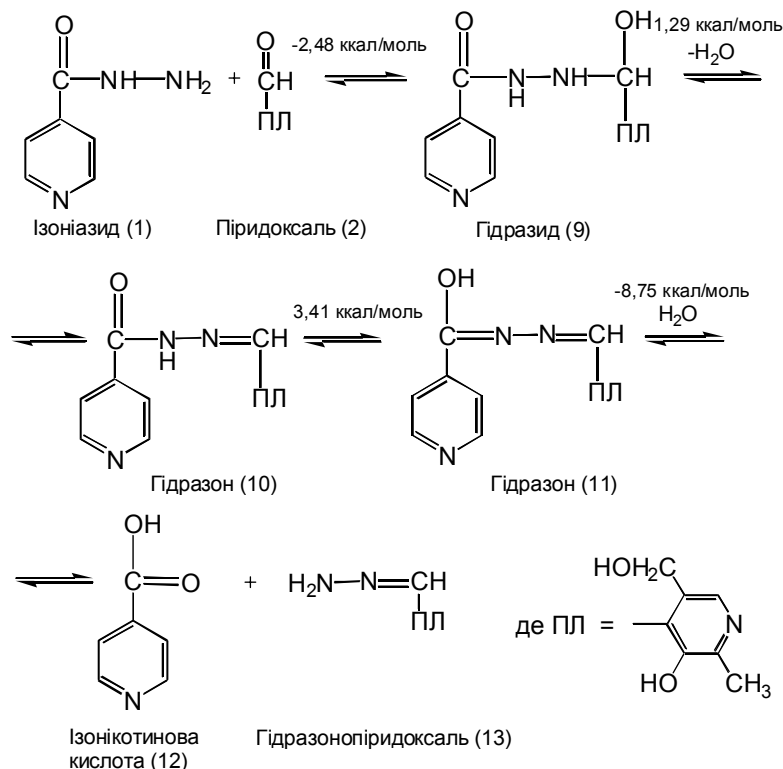


Рис. 4. Взаємодія піридоксалу з ізоніазидом.

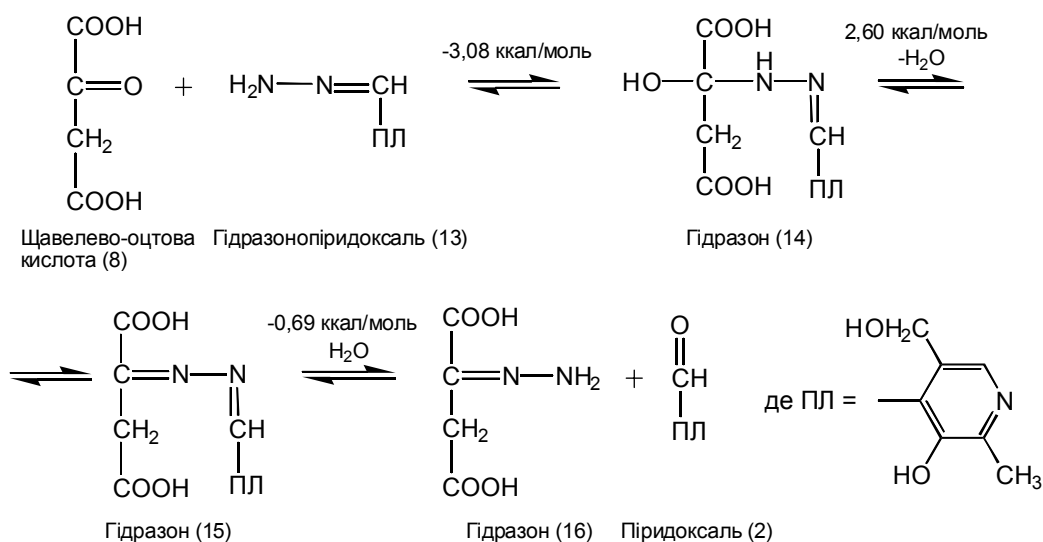


Рис. 5. Взаємодія гідразонопіридоксалу з щавлевооцтовою кислотою.

кількості 3,41 ккал/моль. Гідроліз гідразону (11) до ізонікотинової кислоти є найвигіднішою стадією (-8,75 ккал/моль). У загальному утворення ізонікотинової кислоти (12) з ізоніазиду є екзотермічним процесом, у ході якого вивільнюється -6,52 ккал/моль.

Таким чином, порівнюючи процеси взаємодії піридоксалу з аспарагіною кислотою та ізоніазидом, ми побачили, що з останнім піридоксаль взаємодіє значно легше. Це означає, що ізоніазид дійсно може втручатись у нормальний процес утворення  $\alpha$ -кетокислот з  $\alpha$ -амінокислот. Імовірні похідні ізоніазиду – ізонікотинова кислота (12) та гідразонопіридоксаль (13) – здатні вбудовуватись у нормальний метаболічний ланцюг на заміну притаманних організму нікотинової кислоти та піридоксаміну і, таким чином, призводити до гальмування росту мікобактерій туберкульозу.

Змоделювати цей процес можна на прикладах взаємодій піридоксаміну (7) та гідразонопіридоксалу (13) з щавлевооцтовою кислотою (8) (рис. 3, 5). Зокрема, на рисунку 3 за зворотним ходом реакції показано всі стадії взаємодії піридоксаміну (7) з щавлевооцтовою кислотою (8) до утворення аспарагінової кислоти. У цьому напрямку процес є енергетично

вигідним і перебіг з виділенням -3,42 ккал/моль. Аналогічну схему за участю гідразонопіридоксалу (13) показано на рисунку 5. За цією схемою, як показали розрахунки, процес супроводжується втричі меншим виграшем енергії (-1,17 ккал/моль). Отриманий результат означає, що процес амінування  $\alpha$ -кетокислоти є значно легшим для піридоксаміну (7), ніж для гідразонопіридоксалу (13). З іншого боку, хоча і невеликий, але все ж таки виграш енергії свідчить про те, що гідразонопіридоксаль (13) також здатний взаємодіяти з  $\alpha$ -кетокислотою з утворенням відповідного гідразону (16). Тим самим порушується нормальний процес перетворення амінокислот у клітині, що може призвести до її загибелі.

**ВИСНОВОК.** У результаті проведеного моделювання процесу переамінування амінокислот за участю піридоксалу показано, що ізоніазид здатний конкурувати з амінокислотами в цьому процесі. Його взаємодія з піридоксалем може порушувати їх нормальний метаболізм, призводити до утворення ксенобіотиків (ізонікотинової кислоти та гідразидів) і, таким чином, до гальмування росту мікобактерій.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Гайова Л.В., Овруцький О.В. Вплив особливостей структури піридоксину, піридоксалу, піридоксаміну на їх біологічну активність щодо *Streptococcus faecalis*, *Lactobacillus casei* та росту білих мишей // II Національний з'їзд фармакологів України: Тез. доп. – Дніпропетровськ, 2001. – С. 48.
2. Гайова Л.В., Овруцький О.В., Бобкова Л.С.

та ін. Особливості будови і реакційна здатність піридоксину, піридоксалу, піридоксаміну та ізоніазиду // Ліки. – 2002. – № 1-2. – С. 94-47.

3. Гайова Л.В., Шарикіна Н.І., Бобкова Л.С. та ін. Гальмування росту культури мікобактерії туберкульозу ізоніазидом, вітаміном В6 та піридоксаль-фосфатом в дослідах *in vitro*. Зв'язок "структура –

активність" з використанням квантово-хімічних розрахунків // Укр. пульмонол. журн. – 2002. – № 2 (36). – С. 54-57.

4. Добрынина В.И. Биологическая химия. – М.: Медицина, 1976. – 504 с.

5. Калинин Ф.Л., Лобов В.П., Жидков В.А. Справочник по биохимии. – К.: Наукова думка, 1971. – 1013 с.

6. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. – М.: Медицина, 2000. – Т. 2. – 576 с.

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

8. Хоменко А.Г. Туберкулёз как международная проблема (По материалам XVII Международного конгресса и рабочего совещания ВОЗ) // Пробл. туб. – 1991. – № 1. – С. 65.

9. Altamarino M., Marostenmaki J., Wong A. et al. Mutation in the catalase-peroxidase gene from isoni-

azid-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates // J. Infect. Dis. – 1994. – № 160. – P. 1162-1165.

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

11. 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.

12. 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.

13. Rusch-Gerdes S. Epidemiology of resistant tuberculosis in Europe // Infection. – 1999. – Suppl. 2. – P. 17-18.

## МОЛЕКУЛЯРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИЗОНИАЗИДА НА БИОХИМИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ВИТАМИНА В<sub>6</sub> В ОРГАНИЗМЕ

Ю.И. Губский, Л.В. Гаева, Л.С. Бобкова  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА, КИЕВ  
ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ, КИЕВ

### Резюме

С помощью квантово-химических расчетов определены энергетические характеристики процессов взаимодействия пиридоксала с аспарагиновой кислотой и изониазидом. Установлено, что изониазид способен легче реагировать с пиридоксалем с образованием гидразонопиридоксала, чем аспарагиновая кислота с образованием пиридоксамина. Вероятность легкого взаимодействия с пиридоксалем свидетельствует о том, что изониазид может конкурировать с аминокислотами, нарушая их нормальный метаболизм с участием витамина В<sub>6</sub>. Изониазид может быть донатором ксенобиотических фрагментов – изоникотиновой кислоты и гидразидной группы, способных приводить к поражению микобактерий.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **изониазид, пиридоксаль, витамин В<sub>6</sub>, квантово-химические расчеты.**

## MOLECULAR MODELLING OF ISONIAZID INFLUENCE ON BIOCHEMICAL ACTION OF VITAMIN В<sub>6</sub> IN THE ORGANISM

Y.I. Hubsy, L.V. Gayeva, L.S. Bobkova  
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY . O.O. BOHOMOLETS, KYIV  
INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF AMS OF UKRAINE, KYIV

### Summary

With the help quantum-chemical calculations the energetic characteristics of processes of pyridoxal with aspartic acid and isoniazid interaction are determined. It is established, that isoniazid is capable to react more easy with pyridoxal with hydrazonepyridoxal formation than aspartic acid with pyridoxamine formation. The opportunity of easy interaction with pyridoxal testifies that isoniazid can compete to amino acids, disturbing their normal metabolism under action of vitamins В<sub>6</sub>. Isoniazid can serve as a donator of xenobiotic fragments – isonicotinic acid and hydrazide group, capable to result in inhibition of the mycobacteria growth.

KEY WORDS: **isoniazid, pyridoxal, vitamins of В<sub>6</sub> group, quantum-chemical calculations.**

Адреса для листування: Ю.І. Губський, Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, Україна.



## ФОРМУВАННЯ КОМБІНАТОРНОЇ БІБЛІОТЕКИ ХІНАЗОЛІН-4-ІЛ-ГІДРАЗОНІВ З АНТИОКСИДНОЮ АКТИВНІСТЮ

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

У роботі зроблено спробу планування наукового експерименту на основі віртуального скринінгу з використанням програми Log P компанії ACDLabs для ряду сполук (розрахунок параметрів Ганча (Log P)). У подальшому з урахуванням розрахункового коефіцієнта ліпофільності й правил Ліпінського синтезовано комбінаторну бібліотеку хіназолін – 4 іл-гідразонів шляхом конденсації 4-гідразиохіназоліну з альдегідами ароматичного ряду. Будову синтезованих сполук підтверджено елементним аналізом і ПМР-спектроскопією. Показано, що похідні 4-іліденгідразиохіназоліну проявляють значну антиоксидну активність на моделях ініціювання вільнорадикального окиснення в досліджах *in vitro*. Установлено деяку закономірність взаємозв'язку "будовація", показано, що антиоксидна активність серед досліджених речовин більшою мірою визначається характером замісника в бензиліденовому фрагменті молекули (окси-, метокси-, карбокси-, диметиламіногрупи), а менше – їх кількістю і розташуванням. Крім цього, антиоксидна активність узгоджується з розрахунковими параметрами Ганча (Log P).

Для обробки комбінаторної бібліотеки і відбору серед хінізолін-4-іл-гідразонів найбільш перспективних для фармакологічного скринінгу було використано комп'ютерну програму PASS C&T, яка показала необхідність у подальшому дослідженні даних речовин на протиракову, протитуберкульозну, антивірусну активність.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: комбінаторна бібліотека хіназолін-4-іл-гідразонів, антиоксидна активність, скринінг, параметри Ганча.

ВСТУП. На сьогодні поетапне створення лікарських засобів доповнено рядом нових технологій, які радикально змінили підхід до пошуку сполуки-лідера [1, 4, 12, 13]. Результатом перших стадій пошуку (віртуальний скринінг, комбінаторна хімія тощо) є ідентифікація та цілеспрямований синтез біологічно активних сполук з направленою біологічною активністю. Крім того, початковий етап пошуку пов'язаний із систематичним скринінгом синтезованих речовин на біологічну активність, який вирішують шляхом дослідження в одному біологічному тесті значної кількості речовин або вивчення декількох речовин у багатьох біологічних тестах.

З урахуванням того, що у патогенезі більшості захворювань велику роль відіграє вільнорадикальна фаза, безсумнівний інтерес викликає дослідження антиоксидантної активності на одному з видів скринінгу, тобто дослідження на моделях *in vitro* значної кількості речовин.

Метою даної роботи було створення комбінаторної бібліотеки хіназолін-4-іл-гідразонів з © Н.О. Нестерова, С.І. Коваленко – д.фарм.н., проф., І.Ф. Бєленічев – д.біол.н., О.В. Карпенко, І.В. Сідорова, 2004.

антиоксидантною активністю, яку в подальшому буде використано для біологічних досліджень на модельних патологіях.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. На першому етапі дослідження нами за допомогою програми Log P компанії ACDLabs протестовано сполуки-кандидати з потенційною біологічною активністю на ліпофільність (L P) за методом Ганча. Результати прогнозування, наведені в таблиці 3, показали, що теоретичне значення Log P для відібраних сполук відповідає "правилам Ліпінського" [5, 7]. Тобто для більшості сполук величини Log P вкладаються в значення Log P J 5, і дані речовини є перспективними для фармакологічних досліджень, тому рекомендовані для синтезу.

Для одержання комбінаторної бібліотеки нових похідних з хіназоліновим каркасом нами реакцією конденсації 4-гідразиохіназоліну із заміщеними бензальдегіду, β-оксинафталдегідом та антральдегідом синтезовано ряд 4-ариліденгідразиохіназолінів (схема 1). Реакція конденсації проходить у класичних умовах (спирт ізопропіловий) без кислотного каталізу

протягом 10-60 хв з високими виходами (74-99 %).

Синтезовані сполуки – жовті (1.1-1.10, 1.13, 1.19, 1.20-1.23), жовтогарячі (1.11, 1.12, 1.15-1.18), червоні (1.14, 1.24), світло-коричневі (1.25) кристалічні речовини, розчинні в ДМФА, спиртах (1.1-1.3, 1.5-1.9, 1.11, 1.12, 1.15, 1.16, 1.21, 1.25), діоксані (1.1-1.11, 1.13-1.16, 1.19, 1.21, 1.24, 1.25), практично не розчинні у воді (табл. 1). Для аналізу очищено шляхом кристалізації із пропанолу (1.1-1.3, 1.11, 1.15, 1.16), ізопропанолу (1.6, 1.7, 1.10), діоксану (1.4, 1.13, 1.14, 1.19), ДМФА (1.12, 1.17, 1.18, 1.23), суміші ізопропанол-вода ((1:1) – 1.5, 1.8, 1.9), діоксан-вода ((1:1) – 1.21, 1.25, ДМФА-вода ((10:1) – 1.20, 1.22, 1.25)]. Індивідуальність сполук підтверджена методом тонкошарової хроматографії, будову – ПМР-спектроскопією (табл. 2).

ПМР-спектри синтезованих сполук характеризуються набором сигналів протонів, серед яких можна виділити "ароматичну ділянку", а також сигнали замісників арильного фрагмента (табл. 2). Для більшості речовин в "ароматичній ділянці" спектра спостерігається класичний набір протонів хіназолінового циклу (H8, д.; H2, с.; H7, т.; H5, д.; H6, т.). Слід зазначити, що в слабкому полі знаходяться розширені синглети (11.2-15.6 м. ч.), які належать протонам NH-групи гідразінового залишку. Значне зміщення протона (15.675 м. ч.) вищезазначеної функціональної групи відбувається у спектрі сполуки 1.12, що, можливо, зумовлено дезекрануючим впливом обох атомів бром у арильній субституенті. Крім того, у даній ділянці спектра спостерігаються сигнали обмінних протонів (13.5-13.2 м. ч.) COOH-груп (сполуки 1.20, 1.22, 1.23) та фенольних гідроксилів (11.76-8.12 м. ч.) у вигляді синглетів (сполуки 1.4-1.6, 1.11, 1.12, 1.14, 1.18, 1.24). Характерною особливістю є більш слабкопольне зміщення сигналів протонів OH-груп в ортоположенні (11.76-10.3 м. ч.) відносно пара-положення (9.93-9.6 м. ч.),

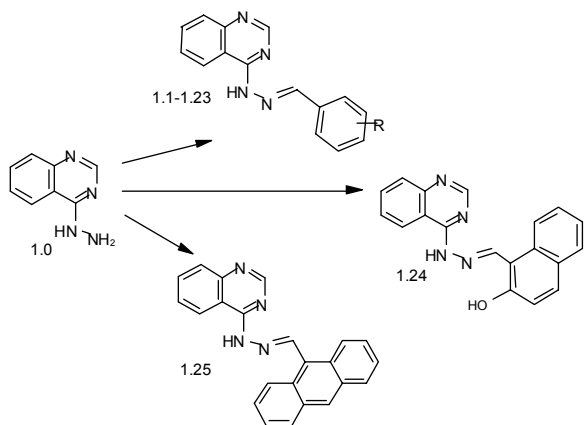


Схема 1.

що можна пояснити утворенням внутрішньо-молекулярного водневого зв'язку. Також це дозволяє зробити припущення про наявність E-ізомерії у досліджуваних сполук.

Характеристичним сигналом для синтезованих речовин є синглет азометинового протона, який спостерігається при 8.8-8.3 м. ч. Винятком є сполуки 1.24, 1.25, які мають у своєму складі поліциклічний ариліденовий залишок, та сполука 1.22 із сильним електроноакцепторним замісником (-COOH) у другому положенні. До того ж, для більшості речовин характерна аналогічна залежність, тобто електроноакцепторні замісники зміщують сигнал протона у слабке поле, даний ефект більш виражений для ортозаміщених похідних.

Другий етап – дослідження антиоксидної активності на моделях *in vitro* [3] при ферментативному та неферментативному ініціюванні – показав (табл. 3), що всі 4-іліденгідразінохіназоліни проявляють значну антиоксидну активність (АОА).

Необхідно відмітити, що дана активність загалом визначається природою замісника у бензиліденовому залишку та залежить від неї. Так, найбільшу АОА на моделі ферментативного ініціювання проявляє 4-п-оксибензиліденгідразінохіназолін (сполука 1.4), перевищуючи активність еталонів порівняння метіоніну та унітіолу на 51,1 і 54,7 % відповідно. Переміщення оксигрупи в ортоположення (сполука 1.5) призводить до зниження активності на 18 % порівняно із сполукою 1.4. Введення до сполуки 1.4 додаткової оксигрупи в ортоположенні (сполука 1.6) також зумовлює незначне зменшення АОА.

Модифікація сполуки 1.5 (4-о-оксибензиліденгідразінохіназолін) шляхом введення метоксильної групи (сполука 1.14) практично не впливає на АОА, тоді як введення бром (сполука 1.11) або дибром (сполука 1.12) призводить до суттєвого зниження активності. Необхідно також відмітити, що для вищезазначених сполук дана залежність характерна на моделі ферментативного ініціювання і в обох випадках узгоджується з розрахунковими даними Log P (спостерігається суттєве його зменшення).

4-п-Хлорбензиліденгідразінохіназолін (сполука 1.1) має менший показник log P (4,18) і вищу антиоксидну активність, а додаткове введення до молекули атома хлору в ортоположенні або заміна його на бром призводить до збільшення коефіцієнта ліпофільності та суттєвого зниження АОА на моделі ферментативного та неферментативного ініціювання (табл. 3). Введення в параположення бензил-

Таблиця 1 – Фізико-хімічні властивості синтезованих сполук

№ сполуки	R	Емпірична формула*	Т. пл., °С	Вихід, %
1.1	4-Cl	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>4</sub>	166-168	74,5
1.2	4-Br	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> BrN <sub>4</sub>	248-250	89,6
1.3	2, 4-Cl <sub>2</sub>	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>4</sub>	256-258	84,2
1.4	4-OH	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O	258-260	83,3
1.5	2-OH	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O	182-184	94,9
1.6	2, 4-(OH) <sub>2</sub>	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	206-208	85,7
1.7	4-OCH <sub>3</sub>	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O	206-208	89,8
1.8	2-OCH <sub>3</sub>	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O	184-186	89,8
1.9	2, 4-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	203-205	81,1
1.10	3, 4-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	230-232	97,3
1.11	2-OH-5-Br	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> BrN <sub>4</sub> O	230-232	99,1
1.12	2-OH-3, 5-Br <sub>2</sub>	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> Br <sub>2</sub> N <sub>4</sub> O	302-304	80,6
1.13	2-OCH <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-Cl-5-NO <sub>2</sub>	C <sub>22</sub> H <sub>16</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>3</sub>	252-254	90,7
1.14	2-OH-3-OCH <sub>3</sub>	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	238-240	95,1
1.15	2-NO <sub>2</sub>	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> N <sub>5</sub> O <sub>2</sub>	208-210	74,8
1.16	3-NO <sub>2</sub>	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> N <sub>5</sub> O <sub>2</sub>	222-224	88,4
1.17	4-NO <sub>2</sub>	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> N <sub>5</sub> O <sub>2</sub>	282-284	95,2
1.18	2-OH-5-NO <sub>2</sub>	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub>	270-272	97,0
1.19	4-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> N <sub>5</sub>	226-228	89,1
1.20	2-OCH <sub>2</sub> -COOH	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	232-234	93,1
1.21	3-OCH <sub>3</sub> -4-OCH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>23</sub> H <sub>20</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	204-206	75,4
1.22	2-COOH	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	254-256	86,3
1.23	2-COOH-3, 4-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	266-268	99,9
1.24	–	C <sub>19</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O	274-276	92,4
1.25	–	C <sub>23</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub>	217-219	71,8

Примітка. \* – фізико-хімічні властивості сполук 1.1-1.3, 1.5, 1.7, 1.15 відповідають літературним даним [2, 6, 10].

іденового залишку нітрогрупи (сполука 1.17) повинно зумовлювати до посилення АОА (розрахункові дані log P – 2,9), але дане припущення не підтверджується експериментальними даними. АОА сполуки 1.15 на моделі неферментативного ініціювання поступається такій сполуки 1.4 на 70 %. Переміщення нітрогрупи по ароматичному кільцю бензиліденової субституенти (в орто- (сполука 1.15) та метаположенні (сполука 1.16)) призводить до посилення активності на 9,09 і 46,06 % відповідно, тобто тут спостерігається залежність АОА від структурної ізомерії. Модифікація сполуки 1.15 шляхом введення замісників, наприклад оксигрупи (сполука 1.18), призводить до підвищення АОА. На моделі ферментативного ініціювання ВРО для 4-нітробензиліденгідразинохіназолінів (сполуки 1.15-1.17) найбільшу активність має для ортоізомер (сполука 1.15), а в подальшому АОА знижується через мета- до параізомеру.

Залежність АОА від структурної ізомерії на двох моделях ініціювання також спостерігається для сполук 1.7-1.10. Так, у даному випадку найбільшу активність проявляє сполука 1.7 (4-п-метоксибензиліденгідразинохіназолін), переміщення замісника в інше положення (сполука 1.8), введення додаткової оксигрупи (сполука 1.9, 1.10) призводять до зниження АОА.

Крім того, як показують результати досліджень (табл. 3), значна антиоксидантна активність характерна і для сполук 1.20, 1.22, 1.23, які містять у бензиліденовій субституенті карбоксильну групу. Необхідно відмітити, що 4-о-карбоксибензиліден-гідразинохіназолін (сполука 1.22) проявляє активність на моделях неферментативного і ферментативного ініціювання, перевищуючи еталони порівняння дибунол та унітіол на 13,2 і 28,9 % відповідно. Подовження зв'язку (оксиметиленова група) поміж карбоксильною групою та бензиліденовим фрагментом молекули (сполука 1.20) призводить до посилення АОА на обох моделях.

Таким чином, найбільшу антиоксидну активність проявляють речовини, які мають у бензиліденовому фрагменті молекули окси-, метокси-, карбокси-, диметиламіногруп, додаткове введення до цих молекул замісників у більшості випадків приводить до зниження АОА. Крім того, дана активність суттєво залежить від структурної ізомерії.

У подальшому, з метою обробки створеної комбінаторної бібліотеки та відбору серед найбільш активних сполук з антиоксидною дією (1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.20, 1.21, 1.25) перспективних для модельного фармакологічного скринінгу, було використано комп'ютерну програму PASS C&T (Prediction of Activity for Substances:

Таблиця 2 – ПМР-спектри синтезованих сполук

№ сполуки	NH (с., розшир.)	-CH=N (с.)	<sup>1</sup> H ПМР-спектри, δ (м. д.)									
			H <sup>8</sup> хін., д.	H <sup>2</sup> хін., с.	H <sup>7</sup> хін., т.	H <sup>5</sup> хін., д.	H <sup>6</sup> хін., т.	AUX				
1.1	11.725	8.539	8.221	7.948	7.699	7.536	7.459	8.003 (д., 2H, H <sup>2</sup> , H <sup>6</sup> фен.); 7.525 (д., 2H, H <sup>8</sup> , H <sup>5</sup> фен.)				
1.2	11.750	8.517	8.188	7.939	7.697	7.521	7.437	7.885 (д., 2H, H <sup>2</sup> , H <sup>6</sup> фен.); 7.655 (д., 2H, H <sup>8</sup> , H <sup>5</sup> фен.)				
1.3	11.725	8.750	8.470	8.009	7.723	7.575	7.482	8.267 (д., 1H, H <sup>6</sup> фен.); 7.755 (д., 1H, H <sup>8</sup> фен.); 7.508 (с., 1H, H <sup>3</sup> фен.)				
1.4	11.531	8.421	8.143	7.808	7.633	7.478	7.398	7.865 (д., 2H, H <sup>4</sup> , H <sup>6</sup> фен.); 6.866 (д., 2H, H <sup>3</sup> , H <sup>5</sup> фен.)				
1.5	11.676	8.762	8.238	см. фен.	7.701	7.674 (м., нер., 2H)	7.320	7.875 (м., 2H, H <sup>2</sup> хін., H <sup>6</sup> фен.); 7.320 (т., 1H, H <sup>4</sup> фен.); 6.944 (д., 2H, H <sup>3</sup> , H <sup>5</sup> фен.)				
1.6	11.2	8.478	8.184	7.742	7.506	7.422	7.287	7.147 (д., 1H, H <sup>6</sup> фен.); 6.334 (д., 1H, H <sup>5</sup> фен.); 6.322 (с., 1H, H <sup>3</sup> фен.)				
1.7	11.236	8.376	8.224	7.740	7.525	7.42	7.303	7.838 (д., 2H, H <sup>2</sup> , H <sup>6</sup> фен.); 6.193 (д., 2H, H <sup>8</sup> , H <sup>5</sup> фен.)				
1.8	11.269	8.797	8.237	7.743	7.534	7.447	7.340	8.258 (д., 1H, H <sup>6</sup> фен.); 7.426 (д., 1H, H <sup>8</sup> фен.); 6.969 (д., 2H, H <sup>4</sup> , H <sup>5</sup> фен.)				
1.9	11.537	8.687	8.16	7.806	7.627	7.45	7.391	8.22 (д., 1H, H <sup>6</sup> фен.); 6.625 (д., 1H, H <sup>5</sup> фен.); 6.644 (с., 1H, H <sup>3</sup> фен.)				
1.10	11.72	8.459	8.224	7.946	7.678	7.517	7.425	7.655 (с., 1H, H <sup>2</sup> фен.); 7.4 (д., 1H, H <sup>6</sup> фен.); 7.058 (с., 1H, H <sup>5</sup> фен.)				
1.11	11.732	8.699	8.184	7.865	7.673	7.515	7.435	8.22 (д., 1H, H <sup>6</sup> фен.); 7.465 (с., 1H, H <sup>5</sup> фен.); 6.912 (д., 1H, H <sup>3</sup> фен.)				
1.12	15.675	8.697	8.238	8.15-7.62 (м., 4H, H <sup>2</sup> хін., H <sup>7</sup> хін., H <sup>6</sup> фен.); 7.55-7.4 (м., 2H, H <sup>6</sup> хін., H <sup>4</sup> фен.)	7.689	7.661	7.482	11.767 (с., 5.434				
1.13	11.957	8.723	8.236	7.967	7.689	7.577	7.460	8.309 (д., 1H, H <sup>6</sup> фен.); 8.309 (д., 1H, H <sup>4</sup> фен.); 7.623 (с., 1H, H <sup>4</sup> O-CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> Cl (р)); 7.62-7.4 (м. 6H, H <sup>5</sup> хін., H <sup>4</sup> фен., H <sup>3</sup> , H <sup>5</sup> , H <sup>6</sup> O-CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> Cl (р)); 7.55-7.35 (м. 3H, H <sup>5</sup> хін., H <sup>6</sup> фен.); 7.028 (д., 1H, H <sup>4</sup> фен.); 6.867 (т., 1H, H <sup>5</sup> фен.)				
1.14	11.614	8.752	8.218	7.837	7.661	7.577	7.482	8.27 (д., 1H, H <sup>3</sup> фен.), 8.076 (д., 1H, H <sup>6</sup> фен.), 7.693 (д., 2H, H <sup>4</sup> , H <sup>5</sup> фен.)				
1.15	11.963	8.817	8.558	7.989	7.843	7.546	7.460	8.679 (с. 1H, H <sup>2</sup> фен.), 8.248 (д. 2H, H <sup>4</sup> , H <sup>6</sup> фен.), 7.92 (3 (д. 1H, H <sup>5</sup> фен.)				
1.16	11.892	8.843	8.406	7.765	7.702	7.560	7.471	8.28-8.20 (д. 4H, H <sup>2</sup> , H <sup>3</sup> , H <sup>4</sup> , H <sup>6</sup> фен.)				
1.17	11.950	8.652	8.300	7.958	7.717	7.560	7.471	8.28-8.20 (д. 4H, H <sup>2</sup> , H <sup>3</sup> , H <sup>4</sup> , H <sup>6</sup> фен.)				
1.18	11.863	8.808	8.332 (м., нер. 1H, H <sup>6</sup> фен.), 8.128-7.8 (м. 3H, H <sup>8</sup> хін., H <sup>2</sup> хін., H <sup>3</sup> фен.), 7.707 (т. 1H, H <sup>7</sup> хін.), 7.492 (м., 2H, H <sup>6</sup> хін., H <sup>4</sup> фен.), 7.073 (д., 1H, H <sup>5</sup> хін.)	7.85	7.629	7.475	7.398	11.61 (с., 1				
1.19	11.497	8.383	8.156	7.85	7.629	7.475	7.398	7.765 (с., 2H, H <sup>2</sup> , H <sup>6</sup> фен.); 6.780 (с., 2H, H <sup>8</sup> , H <sup>5</sup> фен.)				
1.20	11.656	8.865	-	7.868	7.668	7.514	7.437	8.25-8.15 (м. 2H, H <sup>6</sup> хін., H <sup>6</sup> фен.); 7.45-7.35 (м. 2H, H <sup>6</sup> хін., H <sup>4</sup> фен.); 7.1-7.0 (м. 2H, H <sup>3</sup> , H <sup>5</sup> фен.)				
1.21	11.565	8.429	8.170	7.878	7.660	7.660 (с., 1H, H <sup>2</sup> фен.), 7.126 (д., 1H, H <sup>5</sup> фен.); 7.5-7.3 (м., 8H, H <sup>5</sup> хін., H <sup>6</sup> хін., 6H фен.)	7.441	5.140 (с., 69 (с. 3H, 13.25 (с., 13.5 (с., 11.918 (с. 3H H, 4-OCH <sub>3</sub> 8.1 (с., ш				
1.22	11.723	9.192	8.250	7.895	см. фен.	7.441	7.425	8.481 (д., 1H, H <sup>6</sup> фен.); 7.9 (т. 1H, H <sup>5</sup> фен.); 7.64 (м. 2H, H <sup>7</sup> хін., H <sup>6</sup> фен.); 7.537 (м. 2H, H <sup>5</sup> хін., H <sup>4</sup> фен.)				
1.23	11.414	8.357	8.195	7.905	7.651	7.521	7.425	8.087 (д., 1H, H <sup>6</sup> фен.); 7.222 (д. 1H, H <sup>5</sup> фен.)				
1.24	11.875	9.510	8.269	см. фен.	7.697	8.368 (д., 1H, H <sup>6</sup> нафт.), 7.886 (м. 2H, H <sup>2</sup> хін., H <sup>6</sup> нафт.); 7.6-7.2 (м., 4H, H <sup>5</sup> хін., H <sup>4</sup> , H <sup>5</sup> нафт.); 7.203 (д. 2H, H <sup>6</sup> , H <sup>7</sup> нафт.)	7.651	8.1 (с., ш				
1.25	11.675	9.693	8.645	8.384	8.727, 8.645, 8.156, 8.0-7.4 (с., 1H, с., 1H, м. 2H, м., 8H, H <sup>7</sup> хін., H <sup>6</sup> хін., H <sup>5</sup> атр.)	8.645	8.384	8.1 (с., ш				

Таблиця 3 – АОА 4-іліденгідразинохіназолінів у дослідях *in vitro*

№ сполуки	Неферментативне ініціювання*		Ферментативне ініціювання *		Log P**
	Малоновий діальдегід, ммоль/мл	АОА, %	Малоновий діальдегід, ммоль/мл	АОА, %	
Інтакт	0,220 ± 0,005	–	0,36±0,01	–	–
Контроль	1,65 ± 0,01	–	2,07 ± 0,02	–	–
1.1	1,12 ± 0,01	32,12	1,34 ± 0,01	35,26	4,18
1.2	1,17 ± 0,01	29,1	1,45 ± 0,03	29,25	4,45
1.3	1,500 ± 0,005	9,09	1,51 ± 0,02	27,05	4,74
1.4	0,440 ± 0,001	73,33	0,920 ± 0,002	55,55	3,23
1.15	1,450 ± 0,002	12,12	1,12 ± 0,01	45,89	2,9
1.16	0,840 ± 0,001	49,09	1,28 ± 0,01	38,16	2,9
1.17	1,70 ± 0,01	3,03	1,40 ± 0,02	32,37	2,9
1.18	1,000 ± 0,002	39,39	1,23 ± 0,02	40,58	2,51
1.19	0,900 ± 0,001	45,45	1,12 ± 0,01	45,89	3,9
Інтакт	0,660 ± 0,076	–	1,250 ± 0,218	–	–
Контроль	1,365 ± 0,087	–	5,360 ± 0,169	–	–
1.5	0,61 ± 0,04	55,31	3,09 ± 0,10	42,35	3,23
1.6	0,56 ± 0,04	58,97	3,790 ± 0,117	29,29	2,84
1.7	0,675 ± 0,046	50,55	2,390 ± 0,105	55,41	3,49
1.8	0,725 ± 0,046	46,89	2,740 ± 0,076	48,88	3,49
1.9	0,91 ± 0,04	33,33	3,01 ± 0,04	43,84	3,37
1.10	1,040 ± 0,076	23,81	3,160 ± 0,176	41,04	3,37
1.23	0,975 ± 0,046	28,57	2,51 ± 0,04	53,17	2,92
Інтакт	0,600 ± 0,091	–	0,300 ± 0,001	–	–
Контроль	2,230 ± 0,033	–	1,950 ± 0,001	–	–
1.11	1,180 ± 0,001	47,08	1,040 ± 0,068	46,67	4,06
1.12	2,060 ± 0,028	7,62	1,500 ± 0,001	23,08	4,89
1.14	1,120 ± 0,001	49,77	1,420 ± 0,034	27,18	3,1
1.20	0,79 ± 0,02	64,57	1,020 ± 0,056	47,69	2,76
1.21	0,780 ± 0,001	65,02	1,200 ± 0,001	38,46	5,1
1.22	1,170 ± 0,033	47,53	1,200 ± 0,068	38,46	3,18
1.24	2,08 ± 0,03	6,73	1,520 ± 0,003	22,05	4,23
1.25	1,090 ± 0,001	51,12	1,470 ± 0,034	24,61	5,61
Інтакт	0,25 ± 0,01	–	1,240 ± 0,011	–	–
Контроль			4,92 ± 0,14		–
Дибунол			3,68 ± 0,05	25,2	–
α-Токоферолу ацетат			4,12 ± 0,12	16,2	–
Контроль	1,23±0,04	–			–
Метіонін	1,03±0,042	16,2			–
Унітіол	1,00±0,066	18,6			–

Примітка. \* – досліджувані сполуки визначали в дозах: при ферментативному ініціюванні вільнорадикального окиснення (ВРО) – 0,38 мкмоль/мл; при неферментативному – 1,5 мкмоль/мл; дибунол, α-токоферолу ацетат, метіонін, унітіол додавали в дозах 3,0, 2,5, 0,76, 0,76 мкмоль/мл відповідно до моделей ініціювання ВРО;

\*\* – параметри, розраховані за методом Ганча.

Complex and Training) [4, 11, 12]. Біологічна активність у програмі визначається якісним образом (так/ні). У результатах прогнозування, крім виявленої активності, вказується імовірність присутності (Pa) й відсутності (Pi) кожного виду дії (розмірність від 0 до 1). Враховували фармакологічну активність, можливість появи якої перевищувала 30 % (Pa>0,300).

У результатах комп'ютерного прогнозування (табл. 4) хіназолін-4-іл-гідразонів спостерігається висока урикозурична, протитуберкульозна, антивірусна та протиракова активність. Протипухлинна активність прогнозується з різноманітними механізмами дії на ракові

клітини. Спектр дії сполук включає у себе також вазодилаторну та антигіпертензивну активність, що робить їх цікавими в плані пошуку біологічно активних речовин з направленим впливом на серцево-судинну систему.

Таким чином, хіназолін-4-іл-гідразони – перспективні речовини для пошуку протиракових, протитуберкульозних, антивірусних засобів, що і буде метою наших подальших досліджень.

Методи дослідження. ПМР-спектри знімали на спектрофотометрі ядерного магнітного резонансу "Varian VXR-300", розчинник – DMSO-D6, внутрішній стандарт – тетраметилсилан.



Таблиця 4 – Комп'ютерне прогнозування біологічної активності хіназолін-4-іл-гідразонів

№ за/п	Вид біологічної активності	Pa/Pi	Сполука							
			1.4	1.5	1.6	1.7	1.20	1.21	1.24	1.25
1	Uricosuric	Pa	0,947	0,935	0,917	0,942	0,924	0,885	0,931	0,953
		Pi	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,004	0,003	0,003
2	Tumour necrosis factor alpha release inhibitor	Pa	0,692	0,600	0,583	0,732	0,528	0,728	0,584	0,608
		Pi	0,012	0,027	0,031	0,008	0,047	0,009	0,031	0,025
3	Cyclin-dependent kinase 2 inhibitor	Pa	0,686	0,671	0,679	0,714	0,595	0,662	0,653	0,678
		Pi	0,007	0,007	0,007	0,006	0,013	0,007	0,008	0,007
4	Growth factor antagonist	Pa	0,656	0,637	0,658	0,675	0,680	0,625	0,627	0,671
		Pi	0,013	0,015	0,012	0,010	0,010	0,017	0,017	0,011
5	Apoptosis agonist	Pa	0,675	0,471	0,530	0,657	0,360	0,565	0,490	0,356
		Pi	0,112	0,255	0,200	0,123	0,380	0,175	0,236	0,385
6	Antituberculosic	Pa	0,566	0,586	0,573	0,557	0,502	0,506	0,475	0,475
		Pi	0,008	0,007	0,008	0,009	0,012	0,012	0,014	0,014
7	Vasodilator	Pa	0,578	0,564	0,539	0,637	0,571	0,583	0,537	0,626
		Pi	0,033	0,036	0,041	0,022	0,035	0,032	0,042	0,023
8	Arrhythmogenic	Pa	0,559	0,504	0,576	0,651	0,463	0,557	0,464	0,401
		Pi	0,130	0,169	0,120	0,088	0,205	0,131	0,203	0,268
9	Xanthine oxidase inhibitor	Pa	0,524	0,505	0,491	0,515	0,474	0,464	0,497	0,542
		Pi	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,004	0,003	0,002
10	Antiviral	Pa	0,568	0,540	0,559	0,568	0,526	0,528	0,723	0,533
		Pi	0,096	0,057	0,104	0,037	0,070	0,068	0,024	0,063
11	Tyrosine kinase inhibitor	Pa	0,495	0,561	0,563	0,490	0,342	0,466	0,482	0,552
		Pi	0,006	0,005	0,005	0,006	0,007	0,006	0,006	0,005
12	Antihypertensive	Pa	0,480	0,456	0,416	0,533	0,475	0,488	0,473	0,565
		Pi	0,041	0,049	0,0062	0,028	0,043	0,039	0,044	0,023

Дані елементного аналізу на вміст азоту відповідали вирахуваням ( $\pm 0,3\%$ ). Індивідуальність сполук визначали методом тонкошарової хроматографії на пластинках "Сорбфіл". Проявлення хроматограм здійснювали за допомогою УФ-променів.

4-Гідразинохіназолін (сполука 1.0). Його синтез здійснено за відомою методикою з константами, які відповідають літературним даним [8, 9, 11].

N-(4-R-бензиліден)-N'-хіназолін-4-іл-гідразини (сполуки 1.1-1.23) (табл. 1). До 1,65 г (0,01 моль) 4-гідразинохіназоліну (сполука 1.0) в 10-15 мл спирту ізопропілового додавали 0,01 моль відповідного бензальдегіду. Суміш кип'ятили протягом 0,5-1,5 год, охолоджували, осад відфільтровували та сушили.

N-[2-(1-оксинафталіден)]-N'-хіназолін-4-іл-гідразин (сполука 1.24) (табл. 1). До розчину 0,8 г (0,005 моль) 4-гідразинохіназоліну (сполука 1.0) в 20 мл спирту ізопропілового додавали 0,86 г (0,005 моль)  $\beta$ -оксинафталальдегіду. Утворювалися жовто-гаряча кристалічна речовина. Після цього суміш кип'ятили протягом 30 хв, охолоджували. Утворений осад відфільтровували та сушили.

N-(9-Антраліден)-N'-хіназолін-4-іл-гідразин (сполука 1.25) (табл. 1). До розчину 0,8 г (0,005 моль) 4-гідразинохіназоліну (сполука 1.0) в 20 мл спирту ізопропілового додавали 1,03 г (0,005 моль) 9-антральдегіду. Протягом

перших 5 хв утворився осад, нагрівання продовжували до 1 год, потім охолоджували. Утворений об'ємний осад жовтогарячого кольору відфільтровували та сушили.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА БІОЛОГІЧНА ЧАСТИНА  
Оцінку (АОА) сполук у дослідях *in vitro* проводили на двох моделях ініціювання ВРО: оцінка АОА при ферментативному та неферментативному ініціюванні ВРО [3].

ВИСНОВКИ. 1. Проведено планування наукового експерименту на основі віртуального скринінгу з використанням програми Log P компанії ACDLabs для ряду сполук (розрахунок параметрів Ганча (Log P) та з урахуванням "правил Ліпінського" синтезовано комбінаторну бібліотеку хіназолін-4-іл-гідразонів шляхом конденсації 4-гідразинохіназоліну з альдегідами ароматичного ряду. Будову синтезованих сполук підтверджено елементним аналізом та ПМР-спектроскопією.

2. Похідні 4-іліденгідразинохіназоліну проявляють значну антиоксидну активність на моделях ініціювання вільнорадикального окиснення у дослідях *in vitro*.

3. Встановлено деяку закономірність взаємозв'язку "будова-дія", показано, що антиоксидна активність серед досліджених речовин більшою мірою визначається характером замісників у бензиліденовому фрагменті молекули (окси-, метокси-, карбокси-, диметилами-

ногрупи), а менше – їх кількістю та розташуванням. Крім цього, антиоксидна активність узгоджується з розрахунковими параметрами Ганча (log P).

4. Для обробки комбінаторної бібліотеки і відбору серед хіназолін-4-іл-гідразонів най-

більш перспективних для фармакологічного скринінгу було використано комп'ютерну програму PASS C&T, яка показала необхідність у подальшому дослідженні даних речовин на протиракову, протитуберкульозну, антивірусну активність.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Зефирова О.Н., Зефиров Н.С. Медицинская химия. II. Методологические основы создания лекарственных препаратов // Вестник Моск. ун-та. Серия 2: Химия. – 2000. – **41**, № 2. – С. 103-108.
2. Коваленко С.И. Синтез, физико-химические и биологические свойства 1,4-замещенных хиназолина: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук.. – Львов, 1991. – 23 с.
3. Методи оцінки антиоксидантної активності речовин при ініціюванні вільно-радикальних процесів у дослідах *in vitro* // Метод. рек. – К.: ДФЦ, 2002. – 14 с.
4. Поройков В.В. Компьютерное предсказание биологической активности веществ: пределы возможного // Химия в России. – 1999. – № 2. – С. 8-12.
5. Раевский О.А., Григорьев В.Ю. Количественное описание липофильности органических соединений на основе поляризуемости и акцепторной способности к образованию водородной связи // Хим.-фармац. журн. – 1999. – **33**, № 5. – С. 46-49.
6. Сняк Р.С., Коваленко С.И., Панасенко О.И. та ін. Синтез і протимікробна активність іліденгідрозидів 2-гідразинохіноліну та 4-гідразинохіназоліну //

Фармац. журн. – 1997. – № 1. – С. 76-79.

7. Суйков С.Ю., Бондаренко А.В., Луцик О.И. Коефіцієнти розподілу октанол-вода малорозчинних у воді сполук // Фармац. журн. – 2001. – № 6. – С. 66-70.

8. Armarego W.L.F. Quinazolines. Part IV. Covalent hydration in the cations of substituted quinazolines // J. Chem. Soc. – 1962. – № 2. – P. 561.

9. Asano Asai Derivatives quinazoline. // Yakugaku Zasshi. – 1958. – № 78. – P. 450-454.

10. El-Kerdawy, M. Mohamed; Ismaiel et al. Some ilidenhydrazinoquinazoline derivatives. // J. Heterocycl. Chem. – 1990. – **27**, № 3. – P. 497-501.

11. Dewar M.J. S. Attempts to find new antimetabolites // J. Chem. Soc. – 1944. – P. 619-622.

12. Filimonov D., Porojkov V., Borodina Yu. et al. Workshop "Virtual Screening. New approaches in drug design & discovery". // J. Chem. Inf. Comput. Sci. – 1999. – **39**, № 4. – P. 666-670.

13. Walters W.P., Stahl M.A., Murko M. Virtual screening – an overview // Drug Discovery Today – 1998. – **3**, № 4. – P. 160-178.

## ФОРМИРОВАНИЕ КОМБИНАТОРНОЙ БИБЛИОТЕКИ ХИНАЗОЛИН-4-ИЛ-ГИДРАЗОНОВ С АНТИОКСИДНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Н.А. Нестерова, С.И. Коваленко, И.Ф. Беленичев, А.В. Карпенко, И.В. Сидорова  
ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

#### Резюме

В работе сделана попытка планирования научного эксперимента на основании виртуального скрининга с использованием программы Log P компании ACDLabs для ряда соединений (расчет параметров Ганча (Log P)). В дальнейшем с учетом расчетного коэффициента липофильности и правил Липинского синтезирована комбинаторная библиотека хиназолин-4-ил-гидразонов путём конденсации 4-гидразинохиназолина с альдегидами ароматического ряда. Строение синтезированных соединений подтверждено элементным анализом и ПМР-спектроскопией. Показано, что производные 4-илиденгидразинохиназолина проявляют значительную антиоксидантную активность на моделях инициирования свободнорадикального окисления в опытах *in vitro*. Установлена некоторая закономерность взаимосвязи

"строение-действие", показано, что антиоксидная активность среди исследованных веществ в большей мере определяется характером заместителя в бензилиденовом фрагменте молекулы (окси-, метокси-, карбокси-, диметиламиногруппы), а в меньшей степени – их количеством и расположением. Кроме этого, антиоксидантная активность согласуется с расчетными параметрами Ганча ( $\log P$ ).

Для обработки комбинаторной библиотеки и отбора среди хиназолин-4-ил-гидразонов наиболее перспективных для фармакологического скрининга использована компьютерная программа PASS C&T, которая показала необходимость дальнейшего исследования данных веществ на противораковую, противотуберкулезную, антивирусную активность.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** комбинаторная библиотека хиназолин-4-ил-гидразонов, антиоксидная активность, скрининг, параметры Ганча.

## FORMATION OF COMBINATORIAL LIBRARY QUINAZOLINE-4-YL-HYDRAZONES WITH ANTIOXIDANT ACTIVITY

**N.A. Nesterova, S.I. Kovalenko, I.F. Belenichev, O.V. Karpenko, I.V. Sidорова**  
ZAPORIZHZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

### Summary

The attempt of planning of a research experiment is given in work on the basis of virtual screening with usage of the Log P program of ACDLabs company for a number of compounds (account of Hantzsch parameters ( $\log P$ )). On the basis of calculation factor of lipofility and with the account of Lipinskys rules the combinatorial library quinazolin-4-yl-hydrazones was synthesized by means of condensation of 4-hydraziniquinazoline with aromatic aldehydes. A structure of the synthesized compounds was confirmed by the elemental analysis and  $^1\text{H}$  NMR-spectroscopy. It's shown that derivatives of 4-ilidenhydrazinoquinazoline show significant antioxidant activity on the models of initiation of free-radical oxidation in experiments *in vitro*. Some law of interrelation "structure – action" is established. It's shown, that antioxidant activity among the investigated substances in the greater measure is determined by character of the substituent in benziliden fragment of molecule (oxy-, methoxy-, carboxy-, dimethyl-aminogrups), and to a lesser degree by their quantity and arrangement. Besides, antioxidant activity is coordinated with Gantzsch calculation parameters ( $\log P$ ).

For processing of combinatory library and selection among quinazolin-4-yl-hydrazines the most perspective ones for pharmacological screening the computer program PASS C&T was used. It has shown the necessity of the further research of the given substances for their anticancer, antituberculosis, antiviral activity.

**KEY WORDS:** combinatorial library quinazoline-4-yl-hydrazones, antioxidant activity, screening, Gantzsch parameters.

**Адреса для листування:** Н.О. Нестерова, Запорізький державний медичний університет, пр. Маяковського, 26, Запоріжжя, 69035, Україна.

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

## ВИКОРИСТАННЯ ФОСФАТИДИЛХОЛІНОВИХ ЛІПОСОМ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ МЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕНЬ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ ОРГАНІЗМУ

Л.С. Фіра, Я.І. Гонський

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

*Результати проведених досліджень свідчать про те, що введення фосфатидилхолінових ліпосом з інкорпорованим антиоксидантом крезацином за умов хімічного та променевого ураження організму призводить до нормалізації показників антиоксидантної системи та дезінтоксикаційної функції печінки.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** токсичне ураження, тетрахлорметан, нітрит натрію, рентгенівське опромінення, антиоксидантна система, дезінтоксикаційна функція печінки, фосфатидилхолінові ліпосоми, крезацин.

**ВСТУП.** Актуальна проблема лікування екзогенних отруєнь пов'язана з можливістю захисту і відновлення пошкоджених клітинних мембран в умовах цілого організму. При дії на організм ксенобіотиків відбувається деструкція клітинних мембран, в перш за все їх ліпідного бішару, який забезпечує бар'єрну функцію [1, 2].

За останні роки з'явилися роботи [3, 6], що свідчать про можливість прижиттєвого відновлення пошкоджених цитоплазматичних мембран клітин за допомогою яєчного фосфатидилхоліну, введеного у вигляді ліпосом. Не вирішеною до кінця проблемою є включення в ліпосоми лікарських препаратів, які б змогли проявити захисну дію при інтоксикаціях різного генезу. Застосування ліпосом з метою доставки ліків до певних органів-мішеней не викликає сумніву та є актуальною проблемою клінічної медицини [7].

Враховуючи тропність ліпосом до печінки, безперечним є факт використання їх за умов токсичного ураження органа.

Відомо, що при вірусному і токсичному ураженні печінки активуються процеси ліпопероксидації та відбуваються глибокі порушення спектра ліпідів, зокрема фосфоліпідів, у гепатоцитах [8]. Тому при таких патологіях безсумнівним є використання ліпосом з інкорпорованими в них препаратами, які б проявляли антиоксидантні властивості.

Таким чином, застосування фосфатидилхолінових ліпосом як "контейнера" для транспорту лікарських препаратів у різні органи може бути ефективним методом терапії гострих токсичних уражень організму, здатним нормалізувати активність вільнорадикальних реакцій та анаболічні й катаболічні процеси в клітинах. Безперечно, ліпосомальна терапія є новим і перспективним напрямком лікування різних захворювань, у тому числі й токсичних уражень організму.

На основі вищесказаного ми поставили мету – вивчити стан антиоксидантної системи організму та дезінтоксикаційну функцію печінки щурів за умов ураження тварин тетрахлорметаном і нітритом натрію на тлі рентгенівського опромінення після корекції виявлених порушень фосфатидилхоліновими ліпосомами з інкорпорованим крезацином.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження проводили на білих безпородних щурах масою 150-170 г. Їх було поділено на 4 групи: 1-ша – інтактні тварини, 2-га – щури, уражені нітритом натрію та тетрахлорметаном на тлі рентгенівського опромінення, 3-тя – уражені тварини, яким вводили фосфатидилхолінові ліпосоми, 4-та – уражені тварини, які отримували фосфатидилхолінові ліпосоми з інкорпорованим крезацином. Опромінювали щурів за допомогою апарата РУМ-17 в дозі 0,5 Гр. Відразу після опромінення вводили внутрішньошлунково нітрит натрію в дозі 70 мг/кг маси тіла, тетра-

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

хлорметан – у дозі 0,4 мл 50 % олійного розчину внутрішньоочеревинно. Фосфатидилхолінові ліпосоми з інкорпорованим крезацином тварини отримували внутрішньоочеревинно з розрахунку 100 мг ліпиду/кг, крезацин вносили в ліпосоми в дозі 20 мг/кг маси тіла. Дослідження проводили протягом 7 діб. На 4-й та 7-й дні від початку експерименту щурів декапітували під ефірним наркозом.

У досліджуваних тканинах визначали вміст церулоплазміну [5] та активність каталази [5], дезінтоксикаційну функцію печінки оцінювали за деметилазною та гідроксилазною активністю [9] мікросомальної фракції.

Результати піддавали статистичній обробці з використанням критерію Стьюдента [4].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Ураження тварин рентгенівськими променями, нітритом натрію та тетрахлорметаном призводить до значної активації антиоксидних ферментів, зокрема церулоплазміну (табл. 1) та каталази (табл. 2).

Відомо, що мідевмісний білок церулоплазмін синтезується мембранозв'язаними полісомами гепатоцитів. Але, незважаючи на це, при ураженні тетрахлорметаном та нітритом натрію на тлі рентгенівського опромінення відмічається значне зростання його вмісту в сироватці крові тварин. Можливо, збільшення вмісту ферменту пов'язане із зміною його катаболізму. В нормі катаболізм церулоплазміну відбувається за допомогою нейрамінідази, яка здійснює його десіалювання до асіалоцерулоплазміну, здатного виводитися з печінки. В уражених гепатоцитах десіалізація, ма-

ють, менш ефективна, тому розпад церулоплазміну печінки пригнічується, що призводить до підвищення його рівня в сироватці крові. Найбільший високий вміст церулоплазміну в уражених тварин відмічено нами на 7 добу дослідження ( $p > 0,05$ ).

Введення в організм щурів ліпосом, а також ліпосом з інкорпорованим крезацином призводить до зниження вмісту церулоплазміну в сироватці крові дослідних тварин. Більш ефективним було використання з ліпосомами антиоксиданта крезацину, на 7 добу експерименту вміст церулоплазміну майже сягав рівня інтактних тварин.

Аналогічна тенденція до підвищення спостерігалась і для іншого антиоксидного ферменту – каталази.

У результаті проведених досліджень виявлено, що під впливом використаних нами ксенобіотиків активність каталази підвищується як у сироватці крові, так і в печінці щурів уже в перші дні дії токсинів. Можливо, це є результатом мобілізації захисно-компенсаторних механізмів у відповідь на інтенсифікацію вільнорадикальних процесів, що встановлено нами раніше [10]. У пізніші строки експерименту підвищення активності каталази є наслідком деструктивної дії гепатотоксину тетрахлорметану на мембрани гепатоцитів та виходу ферменту в позаклітинний простір. Очевидно, руйнування плазматичних мембран і мембран пероксисом, де міститься основна кількість каталази, супроводжується посиленням її виходом у кров. Зростання активності каталази в печінці є компенсаторною реакцією організму на дію токсичних середників. У відповідь на їх

Таблиця 1 – Вміст церулоплазміну (г/л) в сироватці крові уражених щурів після введення ліпосом та ліпосом з інкорпорованим крезацином ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Групи тварин	Церулоплазмін	
	4 доба	7 доба
Інтактні	0,140±0,005	
Уражені	0,340±0,010*	0,400±0,010*
Уражені+ліпосоми	0,320±0,013	0,300±0,012**
Уражені+ліпосоми+крезацин	0,200±0,011**	0,185±0,010**

Примітка. Тут і в наступних таблицях: \* – зміни достовірні між інтактними тваринами й ураженими нітритом натрію та тетрахлорметаном на тлі рентгенівського опромінення; \*\* – зміни достовірні між ураженими щурами і тваринами, лікованими ліпосомами або ліпосомами з інкорпорованим крезацином.

Таблиця 2 – Активність каталази в сироватці крові (мкат/л) та печінці (мкат/г) уражених щурів після введення ліпосом та ліпосом з інкорпорованим крезацином ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Групи тварин	Сироватка крові		Печінка	
	4 доба	7 доба	4 доба	7 доба
Інтактні	0,020±0,001		0,110±0,007	
Уражені	0,080±0,002*	0,090±0,002*	0,170±0,004*	0,210±0,005*
Уражені+ліпосоми	0,060±0,003**	0,050±0,002**	0,160±0,007	0,200±0,004
Уражені+ліпосоми+крезацин	0,040±0,001**	0,035±0,002**	0,120±0,005**	0,140±0,006**



патогенний вплив починається додатковий синтез цього ферменту в гепатоцитах.

Ефективно знижували активність каталази в обох досліджуваних тканинах як самі ліпосоми, так і ліпосоми з інкорпорованим крезацином (табл. 2). Це, можливо, пов'язано зі стабілізацією структури мембран під впливом фосфатидилхолінових ліпосом, а також з дією антиоксиданта крезацину, який частково бере на себе функцію каталази – знешкоджувати токсичний пероксид водню, що утворюється за умов патології.

Нами досліджено дезінтоксикаційну функцію печінки, зокрема вивчено деметилазну та гідроксилазну активність мікросом за умов ураження тварин екзогенними токсинами. Результати досліджень наведено в таблиці 3, з якої видно, що після ураження тварин відбувається зниження деметилазної активності печінки як на 4, так і на 7 добу дослідження (в 1,5 та 1,2 раза відповідно). Таке зниження виявилось достовірним ( $p < 0,05$ ).

Введення ліпосом з крезацином призвело до підвищення інтенсивності деметилювання у печінці тварин. Деметилазна активність зросла на 46 %, порівняно з ураженими щурами, на 4 добу та на 34 % – на 7 добу експерименту, причому в останній строк вона перевищила рівень інтактних тварин. Це свідчить про знешкодження ксенобіотиків у печінці отруєних тварин після введення в їх організм фосфатидилхолінових ліпосом зі внесеним у них крезацином.

При дослідженні гідроксилазної активності печінки спостерігалась аналогічна тенденція до її зниження після ураження протягом 7 діб. Це

зниження виявилось достовірним тільки на 4 добу від початку введення отруту. Ліпосоми з крезацином ефективно вплив на даний показник проявили на 7 добу експерименту – гідроксилазна активність у цей строк зросла порівняно з ураженими тваринами і незначно перевищувала норму (на 7 %).

На основі з наведених результатів можна констатувати зниження дезінтоксикаючої функції печінки після ураження тварин ксенобіотиками, що проявляється пригніченням деметилазної та гідроксилазної активності в досліджувані строки. Використані нами ліпосоми спричинили позитивний вплив на печінку. Під їх дією активність вищеназаних ферментів зростала і в кінці експерименту навіть перевищила норму. Це дозволяє рекомендувати ліпосоми із внесеним у них антиоксидантом крезацином для зниження ендогенної інтоксикації організму тварин після ураження хімічними сполуками.

**ВИСНОВОК.** Проведені нами дослідження показали, що введення в уражений організм ліпосом з крезацином призводить до нормалізації антиоксидного стану організму, яка проявляється зниженням активності каталази та вмісту церулоплазміну, а також підвищенням активності мікросомальних монооксигеназ печінки, зокрема деметилазної та гідроксилазної активності. Використання фосфатидилхолінових ліпосом з інкорпорованим антиоксидантом крезацином є перспективним методом корекції метаболічних порушень в отруєному організмі й потребує подальшого глибокого вивчення з метою застосування в клініці.

Таблиця 3 – Деметилазна та гідроксилазна активність (нмоль/мг білка) печінки уражених щурів після введення ліпосом та ліпосом з інкорпорованим крезацином ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Групи тварин	Деметилазна активність		Гідроксилазна активність	
	Строки дослідження, (добы)			
	4	7	4	7
Інтактні	4,20±0,20		0,51±0,03	
Уражені	2,60±0,10*	3,50±0,16*	0,35±0,015*	0,40±0,02
Уражені+ліпосоми+крезацин	3,80±0,15**	4,70±0,21**	0,40±0,02	0,55±0,02**

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Арчаков А.И., Карузина И.И. Окисление чужеродных соединений и проблемы токсикологии // Вестник АМ СССР. – 1988. – № 1. – С. 14-23.
2. Бурлакова Е.Б., Сторожок Н.М., Храпова Н.Г. Синергический эффект антиоксидантов и фосфолипидов при окислении природных липидов // Вопр. питания. – 1990. – № 4. – С. 53-58.

3. Велерсон С.Д., Кирпотин Д.Б. Применение липосом с целью индикации функционального состояния системы мононуклеарных фагоцитов // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 1987. – № 11. – С. 73-75.
4. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. – Л.:

Медицина, 1978. – 294 с.

5. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – 311 с.

6. Корда М.М. Корекція фосфатидилхолиновими ліпосомами з інкорпорованим крезацином метаболічних порушень у печінці при інтоксикації D-галактозаміном // Ліки. – 1997. – № 3. – С. 24-27.

7. Корда М.М., Бродін С.В., Стравський Я.С., Крижанівський Я.Й. Використання ліпосом у клінічній медицині // Ліки. – 1997. – № 5. – С. 67-72.

8. Розенберг О.А., Шимановский Н.А., Минее-

ва Е.Н. Влияние липосомной формы и триомбраста на состав липидов крови и органов у экспериментальных животных и др. // Бюл. exper. биол. – 1990. – № 10. – С. 390-393.

9. Современные методы исследования в биохимии / Под ред. М.С. Ореховича. – М., 1988. – 266 с.

10. Фіра Л.С., Кривокульський О.І., Соснієнко С.Ю., Головатюк Л.В. Виявлення метаболічних порушень в організмі щурів при поєднаній дії тетра-хлорметану, нітриту натрію та рентгеновського опромінення // Екол. та ноосферол. – 2002. – 11, № 1-2. – С. 26-32.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФОСФАТИДИЛХОЛИНОВЫХ ЛИПОСОМ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ОРГАНИЗМА

Л.С. Фіра, Я.И. Гонский

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

### Резюме

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что введение фосфатидилхолиновых липосом с инкорпорированным антиоксидантом крезацином при химическом и лучевом поражении организма приводит к нормализации показателей антиоксидантной системы и дезинтоксикационной функции печени.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: токсическое поражение, тетрахлорметан, нитрит натрия, рентгеновское облучение, антиоксидантная система, дезинтоксикационная функция печени, фосфотидилхолиновые липосомы, крезацин.

## USE OF PHOSPHATIDILCHOLINE LIPOSOMES FOR CORRECTION OF METABOLIC VIOLATIONS UNDER CONDITIONS OF TOXIC DEFEAT OF ORGANISM

L.S. Fira, Ya.I. Gonsky

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

### Summary

The results of the conducted researches testify that the introduction of phosphatidylcholine liposomes with incorporated antioxidant cresacine under conditions of chemical and radiation defeat of the organism results in normalization of indicys of antioxidative system and desintoxication function of liver.

KEY WORDS: toxic defeat, tetrahlormethan, sodium nitrite, X-ray irradiation, antioxidative system, desintoxication function of liver, phosphotidilcholine liposomes, cresacine.

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

## ВПЛИВ СИСТЕМИ "L-АРГІНІН:NO" НА ДИНАМІКУ ВМІСТУ ЛІГАНДНИХ ФОРМ ТА СПЕКТРАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГЕМОГЛОБІНУ ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1-ГО ТИПУ

Н.О. Сибірна, М.Я. Люта, В.А. Бурда, Н.В. Біронт, А.М. Федорович, К.П. Дудок  
Львівський національний університет ім. Івана Франка

*Проведено аналіз лігандних форм гемоглобіну еритроцитів щурів у нормі та при цукровому діабеті (ЦД) 1-го типу на фоні введення основного субстрату та інгібіторів NO-синтази. Отримано електронні спектри нітрозилгемоглобіну. Показано, що за умов ЦД інтенсифікується процес S-нітросилування гемоглобіну.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: оксид азоту, гемоглобін, цукровий діабет 1-го типу.

**ВСТУП.** Система "L-аргінін:оксид азоту (NO)" може брати участь у формуванні киснево-транспортної функції крові, тобто впливати на основну функцію клітин еритроциту. NO у реакціях з гемоглобіном (Hb) утворює метгемоглобін (Met-Hb), нітрозилгемоглобін (NO-Hb – нітрузування по Fe<sup>2+</sup> у гемовій групі) та S-нітросогемоглобін (SNO-Hb – нітросилування по β-93-цистеїну). Біологічна функція NO-похідних Hb досить широка (транспорт NO, його депонування, елімінація і т. ін.). Вони також беруть участь у генезі багатьох патологічних станів. Присутність різних сполук Hb з NO може по-різному впливати на спорідненість Hb з киснем крові. Наприклад, Met-Hb і SNO-Hb підвищують її, а NO-Hb знижує [6]. Існує O<sub>2</sub>-залежна рівновага між SNO-Hb та NO-Hb. Припускають, що SNO-Hb діє як "алостерично контрольований буфер NO" [2], який обмінює свою NO-групу з тілами середовища, у тому числі з глутатионом, і тим самим змінює кровотік, виконуючи роль критичного фактора постачання O<sub>2</sub>.

NO кількісно та функціонально відрізняється від O<sub>2</sub>. Для задоволення основних метаболічних потреб організму потрібні мілімолярні кількості O<sub>2</sub> та наномолярні концентрації NO. Але на даний час усе частіше в літературі розглядають дихальний цикл як систему "трьох газів": NO/O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> [2].

Депонування NO можна розглядати як процес адаптаційного захисту, оскільки існує NO-

© Н.О. Сибірна – к.біол.н., М.Я. Люта, В.А. Бурда – к.біол.н., Н.В. Біронт, А.М. Федорович – к.біол.н., К.П. Дудок – к.біол.н., 2004.

індукована активація різноманітних захисних факторів (білки теплового шоку, простагландини, антиоксидантна система).

Зараз активно обговорюється питання альтернативних джерел утворення NO. Окиснювальний процес перетворення Hb в Met-Hb під дією нітрит-іонів може бути спряженим із утворенням NO. Реутовим запропонована концепція циклу азоту, згідно з якою в утворенні NO має значення не лише L-аргінін/NO-синтазна система, але і нітритредуктазна [3]. Імовірно виглядає наявність двох власних механізмів синтезу NO в еритроцитах: NO-синтазного і нітритгемоглобінового, який забезпечується нітритредуктазною активністю дезокси-Hb. Після аналізу взаємодії in vivo NO з Hb було зроблено висновок, що існують такі порядки і співвідношення між реакціями утворення NO-похідних: Met-Hb і NO<sub>3</sub><sup>-</sup> >> NO-Hb > SNO-Hb [5]. Тому нами був проведений аналіз лігандних форм Hb крові щурів у нормі та при стептозотозинному діабеті за введення L-аргініну – основного субстрату NO-синтази (NOS) та Nw-нітро-L-аргінін-метилового ефіру (L-NAME) і аміногуанідину (AG) – інгібіторів цього ферменту, а також отримані спектральні характеристики для NO-Hb у нормі та за умов цукрового діабету (ЦД) 1-го типу.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Як дослідні зразки використовували гемолізати еритроцитів контрольних щурів та тварин з експериментальним ЦД, який викликали шляхом введення стрептозотозину фірми "Sigma" (США) з роз-

рахунку 7 мг на 100 г маси тіла внутрішньочеревно. Розвиток діабету контролювали за вмістом глюкози в крові, який визначали глюкозооксидазним методом. Одночасно у виділених групах тварин протягом 30 днів per os вводили досліджувані речовини з питною водою: L-Arg ("Reanal", Угорщина) у концентрації 1,25 г/л; L-NAME ("Beckenham", Велика Британія) у концентрації 70 мг/л; AG ("Sigma", США) у концентрації 1 г/л. Лігандні форми Hb визначали методом абсорбційної спектроскопії [1]. Нітרוзування проводили у спеціальному сатураторі. При цьому через відновлений дитіоніт натрію гемолізат пропускали оксид азоту, який одержували шляхом відновлення нітросильного іона при поєднанні розчинів NaNO<sub>2</sub> та аскорбінової кислоти [6, 7].

Результати й обговорення. Аналіз лігандних форм Hb показав достовірне зростання вмісту Met-Hb за умов ЦД та при введенні L-аргініну (табл. 1). Раніше нами було показано, що за умов ЦД 1-го типу в еритроцитах значно підвищується активність NOS, причому її індукбельної ізоформи. Натомість, при введенні L-аргініну на фоні діабету спостерігається зниження активності NO-синтази, найімовірніше, за рахунок інгібування кінцевим продуктом, шляхом приєднання NO до гемічної групи ферменту [4]. Зростання кількості Met-Hb у поєднанні із зменшенням активності NOS може вказувати на те, що при введенні L-аргініну за ЦД 1-го типу відбувається переключення NO-синтазної ланки циклу оксиду азоту на нітрит-

редуктазну. Введення in vivo інгібіторів NO-синтази як у нормі, так і за умов ЦД викликало зниження цього показника.

Метаболічний цикл NO може активуватися при різноманітних гіпоксичних станах, оскільки за умов дефіциту O<sub>2</sub> відновлені й гемовмісні білки переносять електрони на іони NO<sub>2</sub>, відновлюючи їх до NO. Виявлений ефект може бути пояснений і тим фактом, що при ЦД додатковими донорами електронів можуть бути глікозильовані амінокислотні залишки в складі Hb і кінцеві продукти глікозилювання.

Вивчення взаємодії Hb з NO є цікавим ще і тому, що оксид азоту має набагато більшу спорідненість (у 8000 раз) з гемічною групою дезоксигемоглобіну, ніж O<sub>2</sub>, що дозволяє припустити його конкурування з киснем за відповідні ділянки на молекулі відновленого і, частково, оксигенованого Hb [5]. Зворотна секвестрація NO гемоглобіном через NO-Hb може відігравати важливу роль у розвитку та перебізі ряду захворювань. Нами були проведені експерименти з нітרוзування Hb у системі in vitro. Поступове перетворення дезокси-Hb в NO-Hb спостерігали за характерними змінами поглинання у видимій ділянці спектра. Широка асиметрична смуга з максимумом при 555-560 нм замінялася двома смугами з максимумами поглинання 545,8 і 572,4 нм, які є характерними для нітросо-Hb [10].

Як виявилось, процес нітרוзування мав особливості для кожної досліджуваної групи зокрема (табл. 2). Час переходу дезокси-Hb у

Таблиця 1 – Вміст лігандних форм гемоглобіну в крові щурів у нормі та при стрептозотоциновому діабеті за умов дії певних чинників (M±m, n=8-10)

Умови	Лігандні форми Hb				
	RHb (дезоксид-Hb)	HbO <sub>2</sub> (окси-Hb)	HbCO (карбокси-Hb)	SHb (сульфид-Hb)	Met Hb (мет-Hb)
КОНТРОЛЬ	0,103±0,007	95,768±0,525	3,488±0,127	0,595±0,285	0,176±0,024
K+L-Arg	0,101±0,003	96,293±1,003	2,631±0,195*	1,050±0,079*	0,208±0,017*
K+L-NAME	0,103±0,013	93,290±1,463	4,918±0,378*	1,128±0,206*	0,045±0,003*
K+AG	0,101±0,014	96,035±0,613	3,299±0,117	0,071±0,098*	0,143±0,012*
ДІАБЕТ	0,098±0,006	94,430±4,521	2,590±0,198*	1,563±0,265*	1,368±0,098*
Д+L-Arg	0,124±0,009	94,298±3,647	1,580±0,440**	1,218±0,874	3,805±0,207**
Д+L-NAME	0,101±0,017	94,555±0,716	3,237±0,679**	1,807±0,622	1,268±0,095
Д+AG	0,117±0,008	95,470±3,094	2,011±0,174**	1,018±0,324**	0,798±0,069**

Примітка. \* – різниця достовірна порівняно з контролем, p<0,05;

\*\* – різниця достовірна порівняно з діабетом, p<0,05.

Таблиця 2 – Швидкість нітרוзування Hb в системі in vitro (M±m, n=8-10)

Досліджувана речовина	Контроль, хв	Цуровий діабет 1-го типу, хв
	120,0±11,3	200,0±18,4*
L-arg	60,0±8,4*	40,0±5,9**
L-NAME	100,0±9,7*	80,0±10,1**
AG	75,0±6,5*	60,0±5,9**

Примітка. \* – різниця достовірна порівняно з контролем, p<0,05;

\*\* – різниця достовірна порівняно з діабетом, p<0,05.

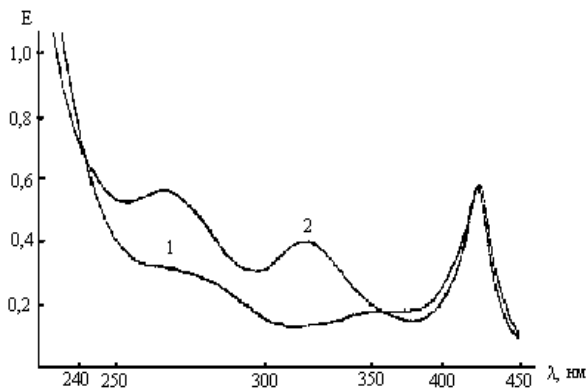


Рис. 1. Типові електронні спектри NO-Hb: 1 – контроль; 2 – ЦД 1-го типу.

NO-Hb за умов індукованого стрептозототичного діабету зростає приблизно на 70 %. Електронний спектр (рис. 1) NO-Hb тварин із стрептозототичним діабетом, порівняно з NO-Hb контрольних щурів, характеризувався гіпсохромним ефектом у межах смуги Soret. Ці зміни в електронному спектрі Hb зумовлені перерозподілом електронної густини у системі спряжених зв'язків протопорфіринового макроциклу й атома заліза. У вихідній дезокси-генованій формі гемоглобіну  $Fe^{2+}$  перебуває у високоспіновому стані, має координаційне число 5 і міститься за площиною гему на відстані 0,07 нм. При взаємодії NO з атомом  $Fe^{2+}$  у 6-му координаційному положенні залізо переходить у низькоспіновий стан, а число лігандів у координаційній сфері збільшується до шести. Перехід у низькоспіновий стан

супроводжується його зміщенням на 0,07 нм у площину гему, що спричиняє поетапний розрив сольових зв'язків між  $\alpha$ -субодинамиціями і зміщенням субодинамиць уздовж контактів  $\alpha_1$ - $\beta_2$  та  $\alpha_2$ - $\beta_1$ .

Нітרוзування дезокси-Hb щурів із стрептозототичним діабетом супроводжувалось гіперхромним ефектом у ділянці поглинання ароматичних амінокислот, що реєструвалося як зміщення максимуму поглинання з 268,3 до 274,9 нм, і появою широкої смуги поглинання при 334 нм порівняно з NO-Hb контрольних тварин. Зміни спектра поглинання в ультрафіолетовій ділянці відбуваються за рахунок взаємодії NO з білковою частиною молекули Hb, адже відомо, що при 320-360 нм поглинають світло S-нітрозотіольні похідні білків [9]. Очевидно, ми реєструємо утворення SNO-Hb, який є продуктом нітрозилування  $\beta$ -93-цистеїну. Ці зміни пов'язані з розгортанням білкової глобули, індукованим нітрозилуванням бокових груп амінокислотних залишків у складі гідрофобного ядра білкової молекули. Наші результати узгоджуються з літературними, в яких показано значне зростання рівня SNO-Hb у тварин з індукованим ЦД [8]. Беручи до уваги дані про зменшення швидкості нітרוзування по гему за умов ЦД 1-го типу (табл. 2), можна зробити висновок про те, що при даній патології переважає процес S-нітрозилування Hb, який має адаптивний характер і спрямований на полегшення від'єднання NO з гему та постачання його до гіпоксичних тканин.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Білий О.І., Дудок К.П., Лук'янець В.М. Визначення вмісту гемоглобіну та його лігандів у цільній крові за методом абсорбційної спектроскопії. – Львів: Видавництво ЛДУ, 1998. – 12 с.
2. Зинчук В.В. Участие оксида азота в формировании кислородсвязывающих свойств гемоглобина // Усп физиол. наук. – 2003. – **34**, № 2. – С. 33-45.
3. Реутов В.П., Сорокина Е.Г. NO-синтазная и нитритредуктазная компоненты цикла оксида азота // Биохимия. – 2000. – **63**, № 7. – С. 1029-1040.
4. Сибірна Н.О., Бурда В.А., Люта М.Я. Активність різних ізоформ NO-синтази еритроцитів за умов цукрового діабету 1 типу // Клін. та експерим. патологія. – 2004. – **3**, № 2. – С. 210-212.
5. Gladwin M.T., Ognibene F.P., Pannel L.K. et al. Relative role of heme nitrosylation and beta-cysteine 93 nitrosation in the transport and metabolism of nitric oxide by hemoglobin in the human circulation // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2000. – **97**, № 18. – P. 9943-9948.
6. Gross S.S., Lane P. Physiological reactions of nitric oxide and hemoglobin: a radical rethink // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1999. – **96**, № 18. – P. 9967-9969.
7. Kroncke K.D., Kolb-Bachofen Y. Detection of nitric oxide interaction with zinc finger protein // Methods in Enzymol. – 1996. – **269**. – P. 279-284.
8. Padron J., Peiro C., Cercas E. Enhancement of S-nitrosylation in glycosylated haemoglobin // Biochem.



Biophys. Res. Commun. – 2000. – **271**, № 1. – P. 217-221.

9. Stamler J.S., Simon D.I., Osborne J.A. et. al. S-nitrosylation of proteins with nitric oxide: synthesis and characterization of biologically active compounds //

Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1992. – **89**, №.1 – P. 444-448.

10. Van Kampen E.J., Zijlsta W.G. Spectrophotometry of hemoglobin and hemoglobin derivatives // Adv. Clin. Chem. – 1983. – **23**. – P. 199-257.

## **ВЛИЯНИЕ СИСТЕМЫ "L-АРГИНИН:NO" НА ДИНАМИКУ СОДЕРЖАНИЯ ЛИГАНДНЫХ ФОРМ И СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГЕМОГЛОБИНА ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 1-ГО ТИПА**

**Н.А. Сибирная, М.Я. Лютая, В.А. Бурда, Н.В. Биронт, А.М. Федорович, Е.П. Дудок**  
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ИВАНА ФРАНКО

### **Резюме**

*Проведен анализ лигандных форм гемоглобина эритроцитов крыс в норме и при сахарном диабете (СД) 1-го типа на фоне введения основного субстрата и ингибиторов NO-синтазы. Получены электронные спектры нитрозилгемоглобина. Показано, что при СД интенсифицируется процесс S-нитрозилирования гемоглобина.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** оксид азота, гемоглобин, сахарный диабет 1-го типа.

## **EFFECT OF "L-ARGININE:NO" SYSTEM UPON DYNAMICS OF THE CONTENT OF LIGAND FORMS AND SPECTRAL CHARACTERISTICS OF HEMOGLOBIN AT TYPE 1 DIABETES MELLITUS**

**N.O. Sybirna, M.Ya. Lyuta, V.A. Burda, N.V. Biront, A.M. Fedorovych, K.P. Dudok**  
LVIV NATIONAL UNIVERSITY BY IVAN FRANKO

### **Summary**

*Ligand forms of rat erythrocyte hemoglobin under normal state and type 1 diabetes mellitus were analyzed after administration of main substrate and inribitors of NO synthase. Electronic spectrums of nitrosyl-hemoglobin were obtained. It was found that under diabetes mellitus the process of hemoglobin S-nitrosylation is intensified.*

**KEY WORDS:** nitric oxide, hemoglobin, type 1 diabetes mellitus.

**Адреса для листування:** Н.О. Сибірна, вул. Дорошенка, 50, кв. 4, Львів, 79000, Україна.

## ВПЛИВ СКЛАДУ РОЗЧИННИКА ТА ІНТЕРКАЛЮЮЧИХ ЛІГАНДІВ НА КОНФОРМАЦІЙНУ СТАБІЛЬНІСТЬ МОЛЕКУЛИ ДНК

Ю.Л. Осип<sup>1,2</sup>, В.О. Камінський<sup>1,2</sup>, М.Д. Луцик<sup>1</sup>, Р.С. Стойка<sup>1,2</sup>  
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ КЛІТИНИ НАН УКРАЇНИ<sup>1</sup>  
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ІВАНА ФРАНКА<sup>2</sup>

Методом термоденатурації (кривих плавлення) досліджено вплив складу розчинника (іонної сили, різних концентрацій сечовини та гуанідингідрохлориду), а також ряду алкалоїдів чистотілу (*Chelidonium majus* L.) на стабільність конформації ДНК. Встановлено, що підвищення іонної сили розчинника до 0,15 (фізіологічні значення) і більше стабілізує конформацію ДНК і підвищує її температуру плавлення. Сечовина сприяє денатурації ДНК і знижує температуру плавлення на величину 3,6 °С при зростанні концентрації сечовини на 1 моль/л. Гуанідин гідрохлорид, як і електроліти, стабілізує конформацію ДНК. Показник ренатурації при поступовому охолодженні розчину ДНК лосося у стандартному буфері й 4 М гуанідин гідрохлориді становить, відповідно, 30 та 75 %, у розчинах 6 та 8 М сечовини ренатурації ДНК не спостерігається. Після видалення сечовини шляхом діалізу і доведення іонної сили до 0,15 показник ренатурації ДНК становив 95 %. Встановлено, що серед основних алкалоїдів чистотілу властивості інтеркаляторів проявляють сангвінарин, хелеритрин, коптисин та берберин (наведені в порядку зменшення активності), вони підвищують температуру плавлення ДНК. Хелідонін не взаємодіє з ДНК і не впливає на стабільність її конформації.

На основі отриманих результатів планується розробити тести для оцінки конформаційних змін ДНК залежно від функціонального стану клітини, а також для визначення чутливості клітин до хіміопрепаратів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ДНК, конформація ДНК, денатурація і ренатурація, гіперхромний ефект, інтеркалятори, алкалоїди чистотілу.

ВСТУП. Молекула ДНК може мати різну конформацію залежно від складу і властивостей середовища (подвійна спіраль А-, В- та Z-типів, триплексна і тетраплексна спіралі або ізольовані одинарні ланцюги після денатурації) [3, 5]. На стабільність конформації впливають іонна сила, рН та інші параметри. Деякі ліганди, зв'язуючись із ДНК, також суттєво впливають на стабільність її конформації. Конформаційні переходи ДНК відіграють важливу роль у регуляції експресії генів, від якої, у свою чергу, залежить функціональний стан клітини. У зв'язку з цим дослідження взаємодії різних чинників, у тому числі й лікарських засобів, з ДНК та їх вплив на конформацію молекули викликають значний теоретичний і практичний інтерес.

Конформаційні зміни ДНК знаходять відображення у гіперхромному ефекті, на якому ґрунтується метод термоденатурації ("плавлення") і ренатурації ДНК [1, 2]. Застосовувавши © Ю.Л. Осип, В.О. Камінський, М.Д. Луцик, Р.С. Стойка, 2004.

цей метод у роботі, ми дослідили вплив складу розчинника (іонної сили, різних концентрацій сечовини і гуанідин гідрохлориду), а також ряду окремих алкалоїдів чистотілу як можливих інтеркаляторів на параметри кривих плавлення та ренатурацію молекули ДНК. Як модельну речовину використали ДНК сперми лосося.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Було застосовано препарат ДНК лосося фірми "Sigma", (США). Хелеритрин, сангвінарин, хелідонін, коптисин та берберин очищено нами з кореневища чистотілу (*Chelidonium majus* L.). Як стандартний розчинник використовували 10 мМ Tris-HCl буфер (рН 7,5). Інкубаційними середовищами, крім контролю, були 2, 4, 6 та 8 М розчини сечовини (х.ч.), 4 М розчин гуанідин гідрохлориду ("Sigma", США).

Динаміку процесу термоденатурації ДНК визначали за допомогою спектрофотометра СФ-26 з термостатованою кюветою. Концентрація ДНК становила 60 мкг/мл (E260 1,0). При вивченні взаємодії алкалоїдів з ДНК їх

кінцеву концентрацію доводили до 0, 2, 5, 8, 10 та 15 мг/мл. Швидкість нагрівання проби становила 1 °С за хвилину. Е260 проби вимірювали через кожних 2 °С. За отриманими результатами будували графік залежності величини екстинкції від температури у кюветі, на підставі якого визначали температуру плавлення (денатурації) ДНК загальноприйнятим методом [4].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Згідно з графіком термоденатурації ДНК лосося у стандартному буфері (рН-7,5) температура плавлення становила 63 °С. Приріст оптичної густини розчину ДНК у відсотках відносно початкового значення складав 33 %. При поступовому охолодженні розчину ДНК до температури 25 °С протягом 30 хв спостерігали зменшення оптичної густини на 8 %, що відповідає показнику ренатурації ДНК 30 %.

При термоденатурації ДНК у буфері з додаванням NaCl до 0,15 М мало місце підвищення температури плавлення ДНК на 23 °С порівняно зі стандартним буфером. Показник ренатурації при повному охолодженні розчину ДНК за даними оптичної густини становив 75 %.

При заміні NaCl на MgCl<sub>2</sub> у концентрації 0,15 М температура плавлення ДНК становила 85,5 °С, а показник ренатурації складав 75 %. Дані свідчать про те, що підвищення іонної сили середовища, зокрема до фізіологічної концентрації солі, суттєво стабілізує двониткову спіральну конформацію ДНК і сприяє реасоціації ланцюгів при її ренатурації. При цьому заряд катіона, що використовується, суттєвого значення не має.

У присутності сечовини спостерігали зниження температури плавлення ДНК, при цьому мала місце обернено пропорційна залежність від концентрації сечовини (рис. 1).

За нашими даними, підвищення концентрації сечовини на 1 моль/л знижує темпера-

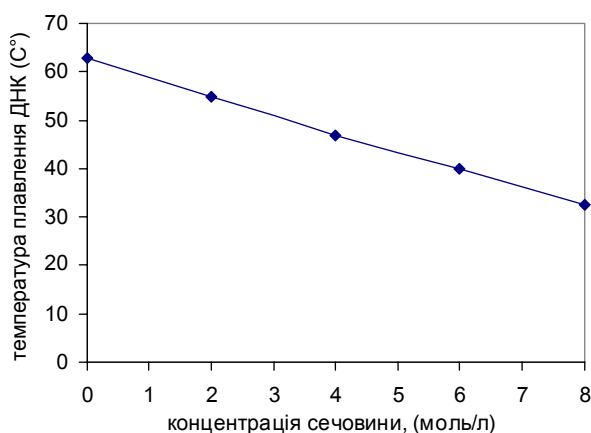


Рис. 1. Залежність температури плавлення ДНК від концентрації сечовини у середовищі.

туру плавлення ДНК на 3,6 °С. Приріст оптичної густини ДНК у розчині сечовини після повної денатурації ДНК близький до 32 %. Показник ренатурації ДНК у розчинах 2 та 4 М сечовини становив, відповідно, 30 та 28 %. У розчинах 6 та 8 М сечовини реасоціація одноланцюгових ниток ДНК після охолодження не спостерігалась (показник ренатурації близький до 0 %).

Враховуючи, що плавлення ДНК у середовищі 6 М сечовини відбувається при відносно низькій температурі 41 °С і можливість побічних модифікацій молекули мала, зроблено спробу ренатурації ДНК шляхом зменшення концентрації сечовини за допомогою діалізу. Діаліз проводили при кімнатній температурі проти буфера з поступовим зниженням концентрації сечовини і підвищенням іонної сили. Результати представлено у таблиці 1.

У присутності 4 М гуанідин гідрохлориду температура плавлення ДНК складала 78 °С, а показник ренатурації при охолодженні розчину становив 75 %. Результати подібні до тих, які отримано у присутності солі, й кардинально відрізняються від одержаних при дії сечовини. Хоча гуанідин, як і сечовина, руйнує водневі зв'язки, він, однак, стабілізує конформацію ДНК за рахунок підвищення іонної сили середовища. На основі цього зроблено висновок, що іонні взаємодії мають більший вплив на конформацію ДНК, ніж водневі зв'язки.

Відомо, що інтеркалюючі чинники стабілізують спіральну конформацію ДНК і підвищують температуру її плавлення [4]. Нами проведено порівняння інтеркаляторної активності п'яти індивідуальних алкалоїдів чистотілу: (хелідоніну, сангвінаріну, хелеритрину, коптизину і берберину) за ступенем збільшення температури плавлення ДНК. Як стандарт для порівняння використали класичний інтеркалятор актиноміцин Д. Встановлено, що усі алкалоїди, за винятком хелідоніну, у концентрації 10 мг/мл підвищували температуру плавлення ДНК (табл. 2).

Найбільш значна різниця (16-17 °С) спостерігалась у присутності сангвінаріну та хелеритрину. Хелідонін практично не впливав на температуру плавлення ДНК (0,8 °С вище контролю). Для кількісної оцінки інтеркалюючої здатності було визначено концентрацію кожного алкалоїду, які викликали половинний ефект підвищення температури плавлення ДНК, що також відображає спорідненість речовини з ДНК. Із даних, наведених у таблиці 2, випливає, що найбільш спорідненими з ДНК і найефективнішими інтеркаляторами є сангвінарін і хелеритрин, які значно перевищують за активністю актиноміцин Д.

Таблиця 1 – Ренатурація ДНК після обробки 6 М сечовиною з наступним її видаленням шляхом діалізу

Умови обробки проби ДНК	Тривалість операції, хв.	E <sub>260</sub>	Показник ренатурації, %
Вихідний розчин ДНК (48 мкг/мл) у буфері з 6 М сечовиною	–	0,92	–
Прогрівання при 45 °С	20	1,11	0
Діаліз проти буфера з 3 М сечовиною і 1 % NaCl	60	0,96	79
Діаліз проти буфера із 1 % NaCl	60	0,93	95

Таблиця 2 – Вплив алкалоїдів чистотілу на температуру плавлення ДНК

№ за/п	Зразки	Концентрація ліганда, мкг/мл	Температура плавлення ДНК, °С	Концентрація при половинному ефекті, мг/мл
1	Контроль (розчин ДНК 60 мкг/мл)	0	63,8	–
2	Сангвінарин	10	79,8	4,4
3	Хелеритрин	10	78,8	4,6
4	Коптизин	10	69,3	5,4
5	Берберин	10	68,3	5,7
6	Хелідонін	10	64,3	*
7	Актиноміцин Д	10	68,7	5,7

Примітка. \* – споріднення дуже низьке й ефект відсутній.

**ВИСНОВКИ.** 1. Конформація ДНК залежить від умов середовища: сечовина послаблює водневі зв'язки між ланцюгами ДНК і руйнує подвійну спіраль, підвищення іонної сили розчину стабілізує спіральну структуру.

2. Алкалоїди чистотілу за спорідненістю з ДНК і ефективністю інтеркаляції можна розмістити в ряд: сангвінарин, хелеритрин, коптизин, берберин. Вони стабілізують спіральну конформацію і підвищують температуру плавлення ДНК, що корелює з їх інтеркаляторною

ефективністю. Відомий інтеркалятор актиноміцин Д за активністю відповідає берберину. Хелідонін не взаємодіє з ДНК і не впливає на стабільність її конформації.

3. На швидкість ренатурації ДНК впливає іонна сила розчину. Після денатурації в розчині 6 М сечовини відновлення подвійної спіралі не спостерігається. Після видалення сечовини і підвищення іонної сили розчину показник ренатурації ДНК становив 95 %.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Gerhard S. Thermal denaturation of double-stranded nucleic acids: prediction of temperatures critical for gradient gel-electrophoresis and polymerase chain reaction // Nucl. Acids Res. – 1994. – **22**, № 14. – P. 2760-2768.  
 2. Pontius B., Berg P. Rapid renaturation of complementary DNA strands mediated by cationic detergents // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1991. – **88**. – 8237-8241.  
 3. Qu X., Trent J., Fokt I. Priebe W., Chairres J. Allosteric, chiral-selective drug binding to DNA // Proc.

Natl. Acad. Sci. USA. – 2000. – **97**, № 22. – 12032-12037.  
 4. Schmeller T., Latz-Bruning B., Wink M. Biochemical activities of berberine, palmatine and sanguinarine mediating chemical defence against microorganisms and herbivores // Phytochem. – 1997. – **44**, № 2. – P. 257-266.  
 5. Waring M. Facilitating structural transitions in DNA // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2000. – **97**, № 22. – P. 11685-11687.

# ВЛИЯНИЕ СОСТАВА РАСТВОРИТЕЛЯ И ИНТЕРКАЛИРУЮЩИХ ЛИГАНДОВ НА КОНФОРМАЦИОННУЮ СТАБИЛЬНОСТЬ МОЛЕКУЛЫ ДНК

Ю.Л. Осип<sup>1,2</sup>, В.О. Каминский<sup>1,2</sup>, М.Д. Луцки<sup>1</sup>, Р.С. Стойка<sup>1,2</sup>  
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ КЛЕТКИ НАН УКРАИНЫ<sup>1</sup>  
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ИВАНА ФРАНКО<sup>2</sup>

## Резюме

Методы термоденатурации (кривых плавления) исследовано влияние состава растворителя (ионной силы, разных концентраций мочевины и гуанидина гидрохлорида), а также ряда алкалоидов чистотела (*Chelidonium majus* L.) на стабильность конформации ДНК. Установлено, что повышение ионной силы растворителя до 0,15 (физиологические значения) и больше стабилизирует конформацию ДНК и повышает её температуру плавления. Мочевина способствует денатурации ДНК и снижает температуру плавления на величину 3,6 °С при возрастании концентрации мочевины на 1 моль/л. Гуанидина гидрохлорид, как и электролиты, стабилизирует конформацию ДНК. Показатель ренатурации при постепенном охлаждении раствора ДНК в стандартном буфере и 4 М гуанидина гидрохлориде составляет, соответственно, 30 и 75 %, в растворах 6 и 8 М мочевины ренатурация ДНК не наблюдается. После выделения мочевины путём диализа и доведения ионной силы к 0,15 показатель ренатурации ДНК составлял 95 %. Установлено, что среди основных алкалоидов чистотела свойства интеркаляторов проявляют санвинарин, хелеритрин, коптизин и берберин (приведены в порядке уменьшения активности), они повышают температуру плавления ДНК. Хелидонин не взаимодействует с ДНК и не влияет на стабильность её конформации.

На основании полученных результатов планируется разработать тесты для оценки конформационных изменений ДНК в зависимости от функционального состояния клетки, а также для определения чувствительности клетки к химиопрепаратам.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ДНК, конформация ДНК, денатурация и ренатурация, гиперхромный эффект, интеркаляторы, алкалоиды чистотела.

# EFFECT OF SOLVENT COMPOSITION AND INTERCALARY LIGANDS UPON CONFORMATIVE STABILITY OF DNA MOLECULE

Yu.L. Osyp<sup>1,2</sup>, V.O. Kaminsky<sup>1,2</sup>, M.D. Lutsyk<sup>1</sup>, R.S. Stoyka<sup>1,2</sup>  
INSTITUTE OF CELLULAR BIOLOGY OF NAS OF UKRAINE<sup>1</sup>  
LVIV NATIONAL UNIVERSITY BY IVAN FRANKO<sup>2</sup>

## Summary

By means of thermodenaturation (melting curve) it was investigated the effect of solvent composition (ion capacity, various concentrations of urea and guanidine hydrochloride) as well as the number of greater celandine (*Chelidonium majus* L.) alkaloids upon the conformation stability of DNA. It was elicited that the increase of ion capacity of solvent up to 0,15 (physiological values) stabilizes more the DNA conformation and raises its melting temperature. Urea contributes to DNA denaturation and lowers the melting temperature by 3,6 °C at increase of urea concentration by 1 mol/L. Guanidine hydrochloride as well as electrolytes stabilized DNA conformation. Renaturation index at gradual cooling of DNA solution in standard buffer and 4 M guanidine hydrochloride is, accordingly, 30 and 75 %, in solutions of 6 and 8 M urea DNA renaturation wasn't observed. After urea isolation by means of dialysis at ion capacity index 0,15 the value of DNA renaturation was 95 %. It was fixed that among the main alkaloids of greater celandine the properties of intercalators have sanguinarine, chelerythrine, coptizine and berberine listed in the order of activity decrease. They increase the melting temperature of DNA. Chelidoneine doesn't interact with DNA and doesn't influence on the stability of its conformation.

Basing on the results obtained it is planned to elaborate the tests for estimation of conformation changes of DNA depending on functional status of the cell and for determination of cell sensitiveness to chemopreparations.

KEY WORDS: DNA, DNA conformation, denaturation and renaturation, hyperchrome effect, intercalators, alkaloids of greater celandine.

Адреса для листування: Ю.Л. Осип, Львівський національний університет ім. Івана Франка, вул. Грушевського, 4, Львів, 79005 Україна.



## ВПЛИВ ІНДУКТОРІВ ТА ІНГІБІТОРІВ ЦИТОХРОМУ P450 НА ФАРМАКОЛОГІЧНИЙ ЕФЕКТ ТА МЕТАБОЛІЗМ КЕТАМІНУ В ЩУРІВ

П.О. Юрченко, О.О. Пентюк

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА

*В експериментах на 120 щурах показано, що попереднє введення фенобарбіталу, рифампіцину, дексаметазону, але не бензпірену чи ацетону, зменшує тривалість кетамінового наркозу, тоді як введення тролеандоміцину, кетоконазолу, клотримазолу і, меншою мірою, циметидину суттєво продовжує дію препарату. Таким чином, індуктори та інгібітори ферментів підроддини цитохрому P4503A послаблюють чи, відповідно, підсилюють фармакологічну активність кетаміну. Основна роль у метаболізмі кетаміну належить ферментам підроддини P4503A, а в умовах індукції фенобарбіталом – ще і ферментом P4502B.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **цитохром P450, інгібітори, індуктори, кетамін.**

ВСТУП. Сучасну фармакотерапію важко уявити без комбінованого застосування лікарських засобів різних фармакологічних груп. Однак наслідки та механізми взаємодії між препаратами вивчено недостатньо. Особливої ваги ця проблема набуває для анестетиків, які мають відносно вузький терапевтичний діапазон, але часто поєднуються з іншими лікарськими засобами [7]. Фармакологічний ефект більшості анестетиків, зокрема і кетаміну, визначається, головним чином, швидкістю перетворення в неактивні метаболіти [6]. Тому застосування лікарських засобів, здатних викликати індукцію чи блокування метаболізуючих ферментів, може істотно вплинути на ефект кетаміну та його токсичність.

Метою роботи було оцінити вплив індукторів (фенобарбіталу, рифампіцину, бензпірену, дексаметазону та ацетону), інгібіторів (циметидину, хлорамфеніколу, діетилдітіокарбамату, кетоконазолу, клотримазолу, тролеандоміцину) цитохрому P450 на снотворну дію кетаміну та його метаболізм мікросомами печінки щурів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на 120 щурах-самцях популяції Вістар масою 160-250 г. Ефект кетаміну оцінювали за тривалістю сну після внутрішньоочеревинного введення в дозі 120 мг/кг. У шлунок вводили

© П.О. Юрченко, О.О. Пентюк – д.мед.н., проф., 2004.

бензпірен у дозі 25 мг/кг протягом 4-х днів; фенобарбітал у дозі 70 мг/кг протягом 5 днів; рифампіцин у дозі 100 мг/кг протягом 5 днів; ацетон у вигляді 30 % розчину в дозі 2 мл/кг протягом 3-х днів. Дексаметазон вводили підшкірно в дозі 5 мг/кг упродовж 5 днів. Інгібування ферментів викликали 5-денним внутрішньошлунковим введенням щурам 100 мг/кг циметидину, 100 мг/кг хлорамфеніколу, 150 мг/кг кетоконазолу. Протягом 2-х днів вводили 80 мг/кг клотримазолу, 200 мг/кг діетилдітіокарбамату. Тролеандоміцин вводили одноразово в дозі 250 мг/кг.

Деметилювання кетаміну вивчали на мікросомній фракції печінки щурів за утворенням формальдегіду [1]. До мікросом додавали специфічні інгібітори цитохрому P450: інгібітор P4502B орфенадрин (0,2 мМ) [4], інгібітор P4501A2 та P4502A6 триптамін (0,05 мМ) [12], інгібітор P4502B і 2C хлорамфенікол (ХФ, 0,05 мМ) [5], інгібітор P4502D хінідин (10 мкМ) [2], інгібітори P4503A тролеандоміцин (0,025-0,1 мМ) та кетоконазол (0,1 мМ) [3], інгібітор P4502E1 діетилдітіокарбамат (0,1 мМ) [2, 3].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що під впливом фенобарбіталу або рифампіцину, або дексаметазону тривалість кетамінового наркозу зменшувалась у 3, 1, 4, 1 та 2,7 раза відповідно, тоді як дія бензпірену та ацетону виявилася слабкою (табл. 1).

Введення хлорамфеніколу, діетилдитіокарбамату значно не впливало на тривалість кетамінового сну, тоді як циметидин продовжував дію препарату на 19 %. Найбільше дію кетаміну пролонгувало введення кетоконазолу (на 71 %), клотримазолу (на 84 %), тролеандоміцину (на 103 %).

Таким чином, найбільший вплив на ефект кетаміну мають речовини, які є індукторами (дексаметазон і рифампіцин) або інгібіторами (кетоконазол, клотримазол та тролеандоміцин) ферментів підроддини цитохрому P4503A [10]. Суттєво впливав і фенобарбітал, який є плейотропним індуктором і підсилює експресію понад 50 генів, включаючи і P4503A [9]. Деякий вплив мав і циметидин – інгібітор ізоферментів, який, крім ферментів підроддини P4502C, інгібує і P4503A [8], слабо впливали ацетон та діетилдитіокарбамат (індуктор та інгібітор P4502E1), безпірен (індуктор P4501A1/2), хлорамфенікол (інгібітор P4502C та 2B) [9].

Кетамін, як відомо, інтенсивно метаболізується до фармакологічно неактивних метаболітів.

Першою реакцією є N-деметилування, яке відбувається, можливо, за участю ізоферментів підроддини P4503A [6]. Ми оцінили вплив інгібіторів на цю реакцію в інтактних щурів та в умовах індукції рифампіцином та дексаметазоном – індукторами P4503A та фенобарбіталом (табл. 2). Введення фенобарбіталу на 69 % посилювало кетамін-N-деметилазну активність, однак ще більшою мірою вона підвищувалася при введенні рифампіцину (на 121 %) та дексаметазону (на 88 %). В інтактних щурів кетамін-N-деметилазна активність слабо реагувала на вибіркові інгібітори P4502B (орфенадрину), P4501A2 і P4502A (триптамину), P4502C (диклофенаку), P4502D (хінідину), P4502E1 (діетилдитіокарбамату). Дещо сильнішою була дія хлорамфеніколу та циметидину, які є інгібіторами як P4502B, так і P4502C, а циметидин ще і частково інгібує P4503A [8].

Найбільше цю активність гальмували інгібітори P4503A – тролеандоміцин та кетоконазол. Профіль дії інгібіторів виявився іншим у щурів, індукованих фенобарбіталом: значно

Таблиця 1 – Вплив індукторів на фармакологічний ефект кетаміну в щурів після його внутрішньоочеревинного введення в дозі 120 мг/кг ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

Індуктори	Тривалість бокового положення		Інгібітори	Тривалість бокового положення	
	С	%		С	%
Контроль	1099±51	100	Циметидин	1310±65*	119
Фенобарбітал	359±39*	33	Хлорамфенікол	1299±78	118
Бензпірен	1099±60	100	Діетилдитіокарбамат	1217±51	111
Рифампіцин	237±27	22	Кетоконазол	1877±72*	171
Ацетон	1018±76	93	Клотримазол	2019±102*	184
Дексаметазон	411±64*	37	Тролеандоміцин	2227±124*	203

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

Таблиця 2 – Вплив інгібіторів ізоформ цитохрому P450 на кетамін-N-деметилазну активність мікросомної фракції печінки щурів, які отримували фенобарбітал, рифампіцин або дексаметазон ( $M \pm m$ ;  $n=10$ )

Інгібітори	Групи тварин			
	Інтактні	Фенобарбітал	Рифампіцин	Дексаметазон
Кетамін-N-деметилазна активність, нмоль/хв/мг білка				
Активність без інгібіторів	5,29±0,34	8,92±0,30*	11,7±0,34*	9,93±0,53*
Кетамін-N-деметилазна активність, у % до активності без інгібіторів				
Орфенадрин, 0,2 мМ	93,10±1,00	49,90±2,16*	86,70±2,29*	87,20±1,95*
Триптамін, 0,05 мМ	91,30±1,62	88,90±2,18	90,00±2,36	88,60±2,06
Хлорамфенікол, 0,05 мМ	81,00±1,31	51,60±2,17*	75,30±2,00*	80,20±2,23
Циметидин, 0,1 мМ	83,20±1,23	52,80±2,28*	77,50±2,14*	81,20±1,90
Диклофенак, 0,1 мМ	84,10±1,35	77,80±2,33*	77,90±2,28*	82,30±2,61
Хінідин, 10 мкМ	93,10±1,57	90,00±2,03	88,90±1,94	88,00±2,43
Тролеандоміцин, 0,1 мМ	21,80±1,30	51,20±2,04*	10,20±1,14*	10,90±1,13*
Кетоконазол, 0,1 мМ	23,40±1,31	51,90±2,10*	12,00±1,36*	11,70±1,48*
Діетилдитіокарбамат, 0,1 мМ	92,20±1,74	90,50±2,58	89,50±2,56	88,60±2,14

Примітки:

- Активність ферментів у пробах без інгібіторів взято за 100 %.
- Достовірність відмінностей порівнювали з інтактними щурами.

зростала частка активності, яка інгібувала орфенандрином, хлорамфеніколом та циметидином – інгібіторами підродини P4502B. Відомо, що у щурів базальна експресія форм P4502B1/2 є дуже низькою і ці білки з'являються в печінці лише під час індукції [11]. Тобто в умовах дії фенобарбіталу підвищення кетамін-N-деметилязної активності відбувається за рахунок підродини P4502B. Нещодавно було показано, що в метаболізмі кетаміну бере участь P4502B6 печінки людей [6], який є аналогом P4502B1/2 печінки щурів. Однак у тварин, індукованих рифампіцином або дексаметазоном, посилюється дія тролеандоміцину та кетоконазолу, які є вибірковими інгібіторами P4503A.

Ці дані свідчать про те, що в щурів у неіндукованому стані та при індукції речовинами типу рифампіцину чи дексаметазону основна роль

у метаболізмі кетаміну належить ферментам підродини P4503A, тоді як в умовах індукції препаратами типу фенобарбіталу в метаболізмі кетаміну, крім P4503A, беруть участь ферменти підродини P4502B.

**ВИСНОВОК.** Дані щодо залежності метаболізму кетаміну ферментами підродини P4503A значною мірою пояснюють ту обставину, що саме індуктори та інгібітори цієї підродини мають найбільший вплив на фармакологічну активність кетаміну. Очевидно, в клінічній практиці слід брати до уваги, що лікарські препарати – субстрати чи інгібітори ферментів підродини цитохрому P4503A – при одночасному призначенні здатні суттєво посилити фармакологічну дію кетаміну, а попереднє застосування індукторів типу рифампіцину та дексаметазону може послабити її.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Карузина И.И., Арчаков А.И. Выделение микросомальной фракции печени и характеристика ее окислительных систем // В кн.: Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 49-62.
2. Bourrie M., Meunier V., Berger Y., Fabre G. Cytochrome P450 isoform inhibitors as a tool for the investigation of metabolic reactions catalyzed by human liver microsomes // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1996. – 227, № 1. – P. 321-332.
3. Chang T.K., Gonzalez F.J., Waxman D.J. Evaluation of triacetyloleandomycin, alpha-naphthoflavone and diethyldithiocarbamate as selective chemical probes for inhibition of human cytochromes P450 // Arch. Biochem. Biophys. – 1994. – **311**, № 2. – P. 437-442.
4. Guo Z., Raeissi S., White R.B., Stevens J.C. Orphenadrine and methimazole inhibit multiple cytochrome P450 enzymes in human liver microsomes // Drug Metab. Dispos. – 1997. – **25**, № 3. – P. 390-393.
5. He Y.Q., He Y.A., Halpert J.R. Escherichia coli expression of site-directed mutants of cytochrome P450 2B1 from six substrate recognition sites: substrate specificity and inhibitor selectivity studies // Chemical Research in Toxicology. – 1995. – **8**, № 4. – P. 574-579.
6. Hijazi Y., Bouliou R. Contribution of CYP3A4, CYP2B6, and CYP2C9 isoforms to N-demethylation of ketamine in human liver microsomes // Drug Metab. Dispos. – 2002. – **30**, № 7. – P. 853-858.
7. Kubler A. Drug interactions in anesthesiology // Pol. Merkurizus. Lek. – 2000. – **9**, № 51. – P. 598-599.
8. Martinez C., Albet C., Agundez J.A. et al. Comparative in vitro and in vivo inhibition of cytochrome P450 CYP1A2, CYP2D6, and CYP3A by H<sub>2</sub>-receptor antagonists. // Clin. Pharmacol. Ther. – 1999. – **65**, № 4. – P. 369-376.
9. Rushmore T.H., Kong A.N. Pharmacogenomics, regulation and signaling pathways of phase I and II drug metabolizing enzymes // Curr. Drug Metab. – 2002. – **3**, № 5. – P. 481-490.
10. Thummel K.E., Wilkinson G.R. In vitro and in vivo drug interactions involving human CYP3A // Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 1998. – № 38. – P. 389-430.
11. Wang H., Negishi M. Transcriptional regulation of cytochrome p450 2B genes by nuclear receptors // Curr. Drug. Metab. – 2003. – **4**, № 6. – P. 515-525.
12. Zhang W., Kilicarslan T., Tyndale R.F., Sellers E.M. Evaluation of methoxsalen, tranlylcypromine, and tryptamine as specific and selective CYP2A6 inhibitors in vitro // Drug Metab. Dispos. – 2001. – **29**, – № 6. – P. 897-902

# ВЛИЯНИЕ ИНДУКТОРОВ И ИНГИБИТОРОВ ЦИТОХРОМА P450 НА ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ И МЕТАБОЛИЗМ КЕТАМИНА У КРЫС

П.А. Юрченко, А.А. Пентюк

ВИННИЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. Н.И. ПИРОГОВА

## Резюме

В экспериментах на 120 крысах показано, что предварительное введение фенобарбитала, рифампицина, дексаметазона, но не бензпирена или ацетона, уменьшает длительность кетаминового наркоза, тогда как введение тролеандомицина, кетоконазола, клотримазола и, в меньшей мере циметидина существенно продолжает действие препарата. Таким образом, индукторы и ингибиторы ферментов подсемейства цитохрома P4503A ослабляют или, соответственно, усиливают фармакологическую активность кетамина. Основная роль в метаболизме кетамина принадлежит ферментам подсемейства P4503A, а в условиях индукции фенобарбиталом – еще и ферментам подсемейства P4502B.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: цитохром P450, ингибиторы, индукторы, кетамин.

# THE INFLUENCE OF CYTOCHROME P450 AND INDUCTORS INHIBITORS ON PHARMACOLOGICAL EFFECT AND METABOLISM OF KETAMINE IN RATS

P.O. Yurchenko, O.O. Pentiuik

VINNYTSIA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY M.I. PIROHOV

## Summary

In experiments on 120 rats it is shown that the preliminary administration of phenobarbital, rifampicin, dexamethasone, but not benzopyrene or acetone reduces the duration of ketamine narcosis, whereas, the administration of troleandomycin, ketokonazole, clotrimazole and, in a smaller measure – cimetidine, essentially enlarges the effect of this drug. Thus, inductors and inhibitors of cytochrome P4503A enzymes reduce or, accordingly, strengthen pharmacological activity of ketamine. The main role in metabolism of ketamine belongs to enzymes of subfamily P4503A, and in conditions of induction by phenobarbital also to enzymes of subfamily P4502B.

KEY WORDS: cytochrome P450, inhibitors, inductors, ketamine.

Адреса для листування: О.О. Пентюк, кафедра загальної та біологічної хімії ВНМУ ім. Пирогова, вул. Медведєва, 11, Вінниця, 21036, Україна.

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

## ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ЗМІНИ ВМІСТУ МОЛЕКУЛ СЕРЕДНЬОЇ МАСИ У ФРАКЦІЯХ ПЛАЗМИ КРОВІ ЩУРІВ З КАДМІЙ-ГІДРАЗИНОВИМ ТОКСИКОЗОМ ТА ЗА КОРЕКЦІЇ ДИПЕПТИДОМ

Є.Б. Дмухальська, С.О. Ястремська, І.Я. Криницька, І.Р. Бекус  
 ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

*Досліджено вплив поєднаної дії кадмію та гідразину хлориду на фракції молекул середньої маси (МСМ) у щурів 3-, 6- і 18-ти місячного віку. Встановлено вікові особливості зміни вмісту МСМ у фракціях плазми крові інтактних тварин за поєднаної дії ксенобіотиків у різні терміни експерименту та за корекції дипептидом. При цьому максимальні зміни у фракціях МСМ плазми крові спостерігалися на 4-ту добу експерименту.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** інтоксикація кадмієм, гідразину хлорид, молекули середньої маси, дипептид, гліцин-триптофан, вік.

**ВСТУП.** Токсичний вплив окремих ксенобіотиків не завжди однаковий і залежить від особливостей їх біотрансформації та віку організму [1, 2]. Дуже небезпечним є поєднання декількох ксенобіотиків, що часто має місце як у побуті, так і на виробництві, зокрема солі гідразину та важких металів, зокрема кадмію. Активні метаболіти гідразину та висока кумулююча здатність кадмію в тканинах збільшують інтенсивність процесів катаболізму та утворення нових токсичних речовин, таких, як молекули середньої маси (МСМ), які, за даними літератури останніх років, визначають темп розвитку інтоксикації організму [1, 3, 5, 7].

Тому метою нашої роботи було вивчити в динаміці зміни вмісту фракцій МСМ у плазмі крові щурів різного віку за комбінованої дії кадмію хлориду і солянокислого гідразину та корекцію цих змін гліцил-триптофаном.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Досліди проводили на білих щурах-самцях 3-, 6- та 18-місячного віку, яким на 1, 3, 5 доби експерименту внутрішньошлункового вводили хлорид кадмію (в дозі 3,5 мг/кг маси тіла) та на 2, 4, 6 доби – гліцил-триптофан (2 мг/кг). На 8-му добу після першого ураження хлоридом кадмію одноразово внутрішньоочеревинно тваринам вводили солянокислий гідразин (90 мг/кг). Визначення загального вмісту МСМ проводили згідно з методикою [4], у модифікації [3] на спектрофотометрі при максимумах поглинання 254 (СМ<sub>1</sub>) і 280 нм (СМ<sub>2</sub>). Окремі фракції МСМ одержували

методом гель-хроматографії відповідно до методики [6].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати досліджень показали, що в здорових тварин з віком вміст МСМ у фракціях плазми крові зростав, але криві спектрів мали подібну форму з максимумом для 5-8 фракцій при довжині хвилі 254 нм (рис.1).

Під впливом хлориду кадмію та гідразину зростав вміст найбільш токсичних ендогенних компонентів МСМ уже на 1-шу добу досліджень. Максимальний вміст СМ<sub>1</sub> і СМ<sub>2</sub> в сироватці крові спостерігався на 4-ту добу експерименту і для щурів 3-, 6- і 18-місячного віку становив: СМ<sub>1</sub> – 188, 160, 182 %, СМ<sub>2</sub> – 273, 200, 230 % відповідно від рівня контролю (інтактні тварини). На 7-му і 10-ту доби експерименту вміст МСМ зменшився у тварин всіх вікових груп, хоча рівня інтактних не досягнув (табл.1).

У тварин з кадмії-гідразинним токсикозом, починаючи з 1-ї і закінчуючи 10-ю добою, спостерігалось також підвищення рівня МСМ в усіх фракціях плазми крові, а також порушення співвідношення фракцій МСМ (рис.1). На 1, 4, і 7 доби експерименту на кривих оптичного спектра фракцій МСМ плазми крові відмічено появу нових максимумів для 12-14 і 16-18 фракцій плазми крові, що відповідають вмісту низькомолекулярних сполук (НМС). Максимальне зростання вмісту МСМ та порушення співвідношення фракцій МСМ у плазмі крові відмічено на 4-ту добу в щурів усіх вікових груп. Проте при кадмії-гідразинному токсикозі найбільші зміни вмісту фракцій МСМ відзначено

© Є.Б. Дмухальська, С.О. Ястремська, І.Я. Криницька, І.Р. Бекус, 2004.



Таблиця 1 – Динаміка вмісту  $SM_1$  та  $SM_2$  у крові (ум. од.) щурів різного віку при інтоксикації гідразинном та кадмієм хлоридом за корекції гліцил-триптофаном ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Вік	Показник	Групи щурів	Інтактні тварин	Дні експерименту			
				1-й	4-й	7-й	10-й
3-міс.	$SM_1$	уражені	0,217 ± 0,016	0,382 ± 0,012*	0,409 ± 0,013*	0,366 ± 0,024*	0,307 ± 0,025*
		кориговані		0,295 ± 0,013#	0,302 ± 0,014#	0,261 ± 0,017#	0,220 ± 0,012#
	$SM_2$	уражені	0,033 ± 0,007	0,073 ± 0,011*	0,090 ± 0,007*	0,065 ± 0,007*	0,058 ± 0,006*
		кориговані		0,059 ± 0,004#	0,046 ± 0,004#	0,038 ± 0,002#	0,033 ± 0,003#
6-міс.	$SM_1$	уражені	0,253 ± 0,008	0,361 ± 0,014*	0,405 ± 0,016*	0,332 ± 0,013*	0,319 ± 0,011*
		кориговані		0,285 ± 0,013#	0,306 ± 0,013#	0,275 ± 0,013#	0,257 ± 0,020#
	$SM_2$	уражені	0,040 ± 0,005	0,063 ± 0,008*	0,080 ± 0,007*	0,068 ± 0,010*	0,057 ± 0,007*
		кориговані		0,052 ± 0,003#	0,059 ± 0,005#	0,045 ± 0,0040	0,040 ± 0,002
18-міс.	$SM_1$	уражені	0,284 ± 0,020	0,402 ± 0,009*	0,518 ± 0,019*	0,483 ± 0,014*	0,431 ± 0,012*
		кориговані		0,367 ± 0,016	0,387 ± 0,016#	0,316 ± 0,014#	0,287 ± 0,016#
	$SM_2$	уражені	0,055 ± 0,008	0,103 ± 0,012*	0,129 ± 0,019*	0,121 ± 0,010*	0,102 ± 0,009*
		кориговані		0,089 ± 0,013	0,095 ± 0,014#	0,064 ± 0,008#	0,056 ± 0,004#

Примітки. \* – зміни достовірні відносно інтактних тварин,  $p < 0,05$ ;  
# – зміни достовірні відносно уражених тварин,  $p < 0,05$ .

у тварин 3-місячного віку, що, очевидно, свідчить про те, що молодий організм є більш чутливим до дії отрут, ніж дорослий і старий.

Введення з метою корекції гліцил-триптофану нормалізувало вміст МСМ у плазмі крові тварин з кадмій-гідразинним токсикозом. Так, упродовж усього експерименту спостерігалось істотне зниження рівня МСМ як при довжині хвилі 254 нм ( $SM_1$ ), так і при 280 нм ( $SM_2$ ), а криві оптичних спектрів фракцій МСМ плазми крові за формою наближалися до відповідних кривих інтактних щурів (табл. 1, рис. 1).

У крові молодих щурів на 4-ту добу експерименту (максимальні зміни як за корекції, так і за ураження) вміст  $SM_1$  у середньому був на 30 % меншим, ніж у тварин без корекції, а  $SM_2$  – на 27 %. На цю добу вміст  $SM_1$  у плазмі крові після введення гліцил-триптофану дорослим 6-місячним щурам з кадмій-гідразиновою інтоксикацією знизився на 24 %, порівняно з ураженими тваринами. Позитивні зміни вмісту МСМ під впливом дипептиду відмічено і в старих щурів. У подальшому вміст і  $SM_1$  і  $SM_2$  продовжував зменшуватися і на 10-ту добу практично наблизився до рівня інтактних щурів усіх досліджуваних груп.

За корекції висота основного максимуму на кривих спектрів фракцій МСМ плазми крові щурів усіх вікових груп зменшилася порівняно з ураженими тваринами, а в ділянці 11-15 фракцій не спостерігався максимум. Для молодих щурів максимум у ділянці 5-8 фракцій на кривих оптичних спектрів фракцій МСМ плазми крові у середньому зменшився на 14 % порівняно з максимумом на кривих оптичних спектрів МСМ уражених тварин. Для дорослих

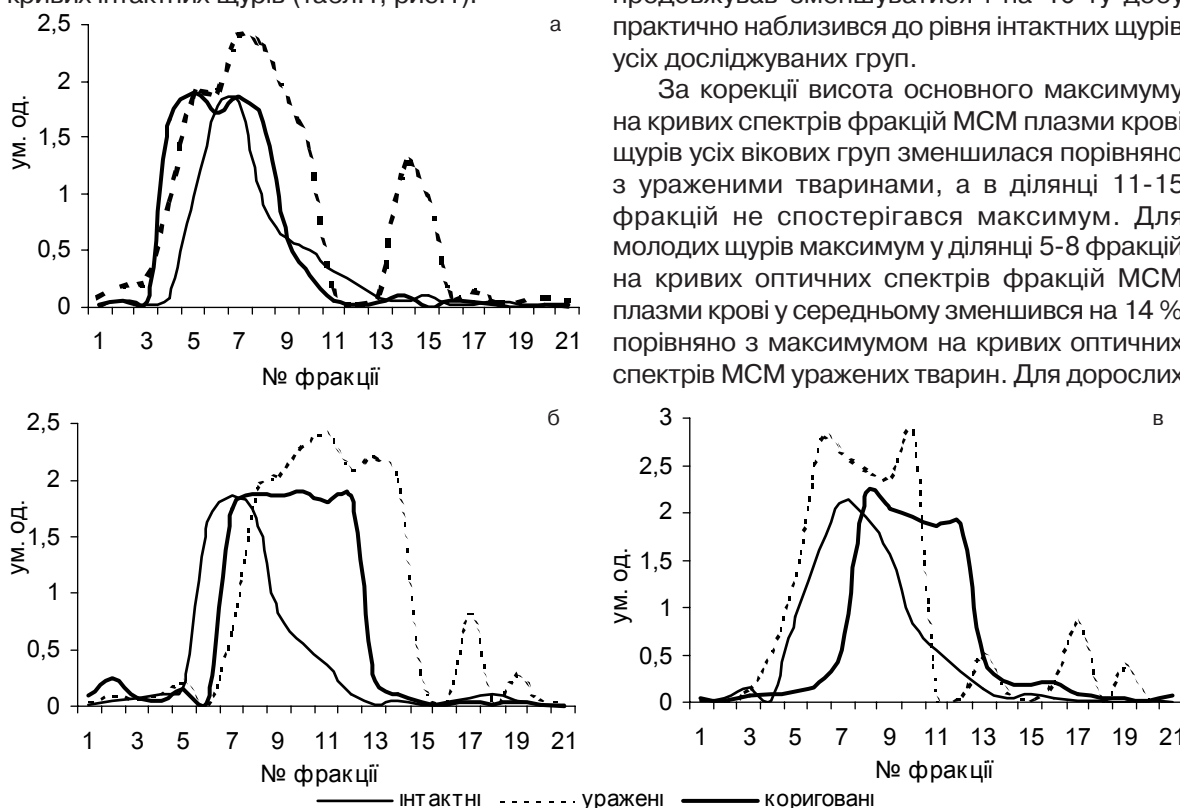


Рис. 1. Криві оптичних спектрів вмісту МСМ у фракціях плазми крові 3-місячних (а); 6-місячних (б); 18-місячних щурів (в) з кадмій-гідразинним токсикозом та за корекції гліцил-триптофаном на 4-ту добу експерименту при довжині хвилі 254 нм.

щурів зниження максимуму вмісту фракцій МСМ у плазмі крові в середньому становило 20 %, а в спектрах 18-ти тварин – 32 %. Отже, низький рівень МСМ у крові коригованих гліцил-триптофаном тварин вказує на пригнічення деструктивних процесів.

ВИСНОВКИ. 1. Введення солянокислого гідразину і кадмію хлориду призводить до зростання вмісту МСМ.

2. Використання з метою корекції гліцил-триптофану та гістидинату міді сприяло відновленню вмісту фракцій МСМ у крові тварин.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Белов А.А. К вопросу о токсичности и опасности гидразина и его производных // Промышленная токсикология. – 2000. – № 1. – С. 25-31.
2. Губский Ю.И., Долго-Сабуров В.Б., Храпак В.В. Химические катастрофы и экология. – К.: Здоров'я, 1993. – 224 с.
3. Креев С., Багмут Т.А, Крочкин М.Ю. Определение тяжести эндотоксикоза при критических состояниях у детей // Педиатрия. – 1990. – № 6. – С. 107-108.
4. Лифшиц Р.И., Вальдман Б.М., Волчегорский И.А., Лужевский А.С. Роль среднемoleкулярных

пептидов крови в развитии кардиодепрессии при термических ожогах. // Бюл. эксперим. биол. и медицины. – 1986. – **101**, № 3. – С. 280 – 282.

5. Михалева Л.М. Кадмийзависимая патология человека // Архив патологии 1983. – № 9. – С. 81-85.

6. Туряница И.М., Федорович Т.М., Туряница С.М. Фракции средних молекул сыворотки крови у крыс при токсическом гепатите // Укр. биохим. журнал. – 1987. – **59**, № 3. – С. 82-84.

7. Rikans L.E., Yamano T. Mechanisms of cadmium-mediated acute hepatotoxicity // J.Biochem. Mol. Toxicol. – 2000. – **14**, № 2. – P. 110-117.

## ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ МОЛЕКУЛ СРЕДНЕЙ МАССЫ ВО ФРАКЦИЯХ ПЛАЗМЫ КРОВИ КРЫС С КАДМИЙ-ГИДРАЗИНОВЫМ ТОКСИКОЗОМ И ПРИ КОРРЕКЦИИ ДИПЕПТИДОМ

**Е.Б. Дмухальская, С.О. Ястремская, И.Я. Криницкая, И.Р. Бекус**  
ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

#### Резюме

*Исследовано влияние совместного действия кадмия и гидразина хлорида на фракции молекул средней массы у крыс 3-, 6-, и 18-месячного возраста. Установлено возрастные особенности изменения содержания МСМ во фракциях плазмы крови интактных животных при совместном действии ксенобиотиков в разные сроки эксперимента и при коррекции дипептидом. При этом максимальные изменения содержания МСМ у фракциях плазмы крови наблюдались на 4-е сутки эксперимента.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** интоксикация кадмием, гидразина хлорид, молекулы средней массы, дипептид, глицил-триптофан, возраст.

## AGE PECULIARITIES OF CHANGE OF MEDIUM MASS MOLECULES CONTENT IN FRACTIONS OF RAT BLOOD PLASMA WITH CADMIUM-HYDRAZINE TOXICOSIS AND AT CORRECTION BY DIPEPTIDE

**Ye.B. Dmukhalska, S.O. Yastremska, I.Ya. Krynytska, I.R. Becus**  
TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

#### Summary

*The effects of combine action of cadmium chloride and hydrochloride hydrazine on the amount of medium mass molecules (MMM) in rats aged 3-, 6- and 18- months have been studied. The age peculiarities of MMM amount change in fractions of blood plasma of intact animals under the combined use of xenobiotics and under the correction by dipeptide in different periods of the experiment have been revealed. The maximum changes of MMM were observed on the 4-th day of experiment.*

**KEY WORDS:** cadmium intoxication, hydrochloride hydrazine, medium mass molecules, dipeptide, glycil-tryptophane, age.

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

## СТАН НАДФН-ЗАЛЕЖНОЇ СИСТЕМИ ЛІПОПЕРЕОКИСНЕННЯ У МІКРОСОМАХ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

І.М. Кліщ

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

*В експерименті на щурах-самцях різних вікових категорій – молодих (3-місячних), дорослих (8-10-місячних) і старих (18-24-місячних) – на моделі токсичного ураження печінки тетрахлорметаном (CCl<sub>4</sub>) досліджували активність ферментативної системи перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у мікросомах гепатоцитів. Установлено, що інкубація мікросом печінки тварин з токсичним ураженням CCl<sub>4</sub> супроводжується зигненням накопичення ТБК-активних продуктів ліпопероксидації. Найбільш виражене пригнічення зафіксовано в 3-місячних щурів, що пов'язують з інтенсивним утворенням у них вільнорадикальних продуктів метаболізму тетрахлорметану *in vivo* і пригніченням мікросомальних гемопротеїнів. Зроблено висновок про вікові особливості активності ферментативного ПОЛ у мікросомах печінки тварин з токсичним ураженням тетрахлорметаном.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** токсичне ураження печінки, тетрахлорметан, мікросоми, перекисне окиснення ліпідів.

**ВСТУП.** Механізм гепатотоксичної дії тетрахлорметану включає два основних процеси: активацію вільнорадикального окиснення фосfolіпідних компонентів мембранних структур та безпосереднє зв'язування токсину і його метаболітів з цитоплазматичними макромолекулами та певними фракціями ядерного хроматину [2, 3]. Утворення вільнорадикальних метаболітів ксенобіотиків та генерація активних форм кисню здійснюються у процесі їх біотрансформації за участю цитохром Р-450 залежних монооксигеназ [1, 2]. Як показано рядом дослідників, існують вікові особливості вмісту цитохрому Р-450 та функціонування мікросомальної монооксигеназної системи [4, 5], що може впливати на активність радикалоутворення.

На основі вищенаведеного ми поставили собі мету дослідити активність НАДФН-залежної системи перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у мікросомах, виділених з печінки тварин різних вікових груп з токсичним ураженням тетрахлорметаном.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Досліди провели на 72 нелінійних щурах-самцях, котрих було поділено на 3 групи: 1-ша – молоді (3-місячні); 2-га – дорослі (8-10-місячні); 3-тя – старі (18-24-місячні). Тетрахлорметан вводили внутрішньоочеревинно в дозі 2 г/кг у вигляді 50 % олійного розчину. Інтактні тварини отримували ідентичний об'єм рослинної олії. Щурів декапітували через 3, 24 та 76 год після введення отрути під легким ефірним наркозом.

Мікросоми з печінки тварин виділяли шляхом низькошвидкісного центрифугування за методом [7] в модифікації В.В. Лемешко [4]. Концентрацію мікросомального білка визначали за Лоурі [6]. Активність НАДФН-залежного ПОЛ визначали за швидкістю нагромадження ТБК-активних продуктів [3]. Результати обробляли загальноприйнятими методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Інкубація мікросом печінки інтактних щурів різних вікових груп з НАДФН по-різному впливала на нагромадження ТБК-реагуючих продуктів у середовищі інкубації (табл. 1). У тварин 3-місячного віку спостерігалось найбільш інтенсивне їх нагромадження, а у старих щурів показники були найнижчими. Це зумовлено, ймовірно, різною інтенсивністю перенесення електронів електронотранспортною системою ендоплазматичного ретикулума залежно від віку, на що вказує ряд дослідників [4, 5], а також актив-

ністю цитохрому Р-450, який бере участь у генерації активних форм кисню, що можуть бути активаторами вільнорадикальних процесів.

При інкубації з НАДФН мікросом печінки тварин, яким 24 год перед цим було введено тетрахлорметан, бачимо (табл. 1, рис. 1), що концентрація ТБК-реагуючих продуктів знизилась у молодих щурів на 46,4 %, у дорослих – на 42,7 %, у старих – 37,9 % порівняно з інтактними мікросомами. Це, на наш погляд, пов'язано з порушенням структурної організації електронотранспортного ланцюга та деградацією мікросомальних гемопротейнів внаслідок деструктивної дії вільнорадикальних похідних тетрахлорметану. Більш виражене зниження накопичення вільнорадикальних продуктів у молодих тварин може бути наслідком значно вищого вихідного рівня активності мікросомальних монооксигеназ у щурів цієї вікової групи, що призводить до інтенсивнішого утворення вільнорадикальних метаболітів, які, у свою чергу, пригнічують інтенсивність електронотранспортного ланцюга та цитохрому Р-450, а також кращим доступом вільнорадикальних метаболітів до мембранних фосфоліпідів. У 3-місячних тварин, яких декапітували через 3 доби після введення отрути, активність НАДФН-залежного ПОЛ зростала незначно і досягала 66,7 % від рівня інтактних щурів, тоді

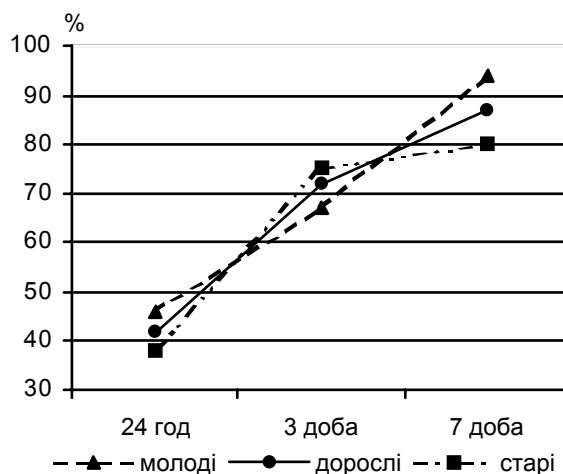


Рис. 1. Динаміка накопичення ТБК інкубованими з НАДФН мікросомами печінки щурів різного віку з токсичним ураженням тетрахлорметаном (за 100 % взято дані інтактних тварин відповідних вікових груп).

як у дорослих цей показник складав 71,5 %, а в старих – 75,8 %. До 7-ї доби здатність мікросом уражених тетрахлорметаном тварин до ферментативної генерації ПОЛ відновлювалась і становила у 3-місячних тварин 93,4 %, у дорослих – 86,7 %, а в старих – 80,3 %. Відставання нормалізації НАДФН-залежної активації ліпопереокиснення у старих щурів можна пояснити виснаженням запасів фосфоліпідів, що зафіксовано у наших дослідженнях.

Таблиця 1 – Активність НАДФН-залежного ПОЛ у мікросомах печінки щурів різних вікових груп, уражених тетрахлорметаном ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )

Групи тварин	НАДФН-залежне ПОЛ, ммоль/(хво·кг білка)			
	Інтактні	Час від початку введення тетрахлорметану		
		24 год	3 доба	7 доба
3-міс.	$1,38 \pm 0,22$	$0,74 \pm 0,05^*$	$0,92 \pm 0,08^*$	$1,29 \pm 0,08^*$
8-10-міс.	$0,68 \pm 0,13$	$0,39 \pm 0,07^*$	$0,48 \pm 0,06^*$	$0,59 \pm 0,04$
18-24-міс.	$0,60 \pm 0,12$	$0,41 \pm 0,05$	$0,50 \pm 0,03^*$	$0,53 \pm 0,04$

Примітка. \* – різниця достовірна порівняно з інтактними тваринами.

У ряді досліджень показано, що інкубація інтактних мікросом з тетрахлорметаном та НАДФН супроводжується зростанням накопичення продуктів ліпопереокиснення [3]. Отримані нами результати можна пояснити виникненням рефрактерності мікросомальних фосфоліпідів печінки щурів, яким вводили тетрахлорметан, до активації ПОЛ внаслідок зниження у мікросомальних мембранах вмісту основних субстратів ліпопереокиснення, зокрема арахідонової кислоти, через пероксидну деградацію *in vivo* під дією вільнорадикальних продуктів біотрансформації тетрахлорметану, на що вказує ряд дослідників [2]. Вікові особливості цих процесів зумовлені, ймовірно,

різною інтенсивністю утворення радикальних продуктів ксенобіотика внаслідок неоднакового вихідного рівня активності мікросомальних монооксигеназ.

**ВИСНОВКИ.** 1. Існують вікові особливості активності НАДФН-залежної системи ПОЛ у мікросомах печінки тварин, уражених тетрахлорметаном.

2. Найбільше пригнічення накопичення ТБК-активних продуктів за умов інкубації мікросом печінки щурів, уражених тетрахлорметаном, спостерігається у 3-місячних тварин, найменш виражене – у старих.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Анисимов В.Н., Арутюнян А.В., Опарина Т.И. Возрастные изменения активности свободнорадикальных процессов в тканях и сыворотке крыс // Рос. физиол. журн. – 1999. – **85**, № 4. – С. 502-507.
2. Губский Ю.И., Хмелевский Ю.В. Функционирование систем биологического окисления и антиоксидантной системы в мембранах гепатоцитов при токсическом поражении печени // В кн.: Системно-антисистемная регуляция в норме и патологии. – К.: Вища школа, 1983. – С. 22-23.
3. Костюк В.А. Роль ковалентного связывания и перекисного окисления липидов в повреждении печени четыреххлористым углеродом // Биохимия. – 1991. – **56**, вып. 10. – С. 1878-1885.
4. Лемешко В.В. Система микросомального окисления при развитии и старении организма // Биохимия. – 1980. – **46**, вып. 11. – С. 1964-1969.
5. Парамонова Г.І. Регуляція мікросомального окислення в печінці при старінні: Автореф. дис. ... д-ра біол. наук. – К., 1994. – 46 с.
6. Lowry O.H., Rosenbrough N., Jarr L. Protein measurement with the folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – **193**, № 1. – P. 265-275.
7. Shenkman J.B., Cinti D.L. Preparation of microsomes with calcium // Methods of Enzymology. – 1974. – **52**, № 4. – P. 83-89.

## СОСТОЯНИЕ НАДФН-ЗАВИСИМОЙ СИСТЕМЫ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ У МИКРОСОМАХ ПЕЧЕНИ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА В УСЛОВИЯХ ТОКСИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

И.Н. Клищ

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

### Резюме

В эксперименте на крысах-самцах разных возрастных категорий – молодых (3-месячных), взрослых (8-10-месячных) и старых (18-24-месячных) – на модели токсического поражения печени тетрахлорметаном ( $CCl_4$ ) исследовали активность ферментативной системы перекисного окисления липидов (ПОЛ) в микросомах гепатоцитов. Установлено, что инкубация микросом печени животных с токсическим поражением  $CCl_4$  сопровождается снижением накопления ТБК-активных продуктов липопероксидации. Наиболее выраженное угнетение зафиксировано у 3-месячных крыс, что связывают с более интенсивным образованием у них свободнорадикальных продуктов метаболизма тетрахлорметана *in vivo* и угнетением микросомальных гемопротеинов. Сделан вывод о возрастных особенностях активности ферментативного ПОЛ у микросомах печени животных с токсическим поражением тетрахлорметаном.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: токсическое поражение печени, тетрахлорметан, микросомы, перекисное окисление липидов.

## THE STATE OF NADPH-DEPENDENT SYSTEM OF LIPOPEROXIDATION IN MICROSOMAS OF RAT LIVER OF DIFFERENT AGE UNDER CONDITIONS OF TOXIC DEFEAT BY TETRACHLORMETHANE

I.M. Klishch

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

### Summary

In the experiment on male rats of different age categories: young, 3 month old, adults, 8-10 month and old (18-24 month old) on the model of toxic defeat of liver by tetrachlormethane, activity of enzymatic NADPH-dependent system of lipid peroxidation in microsomas of hepatocytes was observed. It was fixed that in 3 hours after a poisoning the highest activity was observed at young animals, and the least – at old. In 24 hours the activity of lipid peroxidation at adult and old rat microsomas was growing, and young – was sharply reducing. In 72 hours changes had the opposite character. The conclusion about age features of activation of enzymatic lipid peroxidation in liver microsomas of animals with toxic defeat by tetrachlormethane was made.

KEY WORDS: toxic defeat of liver, tetrachlormethane, microsomas, lipid peroxidation.

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



## ВМІСТ ЗАЛІЗА І МАГНІЮ У ПЕЧІНЦІ КОРОПА ЗА ЗАБРУДНЕННЯ СЕРЕДОВИЩА СОЛЯМИ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

А.Є. Мудра

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В. ГНАТЮКА

*Досліджували дію іонів  $Zn^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  у воді в концентраціях, близьких до природного вмісту та у 20 і 50 разів вищих, протягом 14 діб на коропа лускатого (*Cyprinus carpio L.*). Загальна залізов'язувальна здатність печінки коропа є чутливим показником до дії найменшої концентрації іонів міді та свинцю, а також середньої концентрації всіх досліджуваних металів. Загальний вміст заліза та магнію у тканині зростає за дії малої концентрації іонів марганцю і зменшується при дії свинцю. Рівень магнію збільшується лише за дії невеликої концентрації міді, а в інших умовах відповідає контролю. Найвища концентрація металів не викликає змін у метаболізмі заліза і печінки коропа.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** короп, важкі метали, залізо, загальна залізов'язуюча здатність, магній, прооксидантні процеси.

ВСТУП. Молекулярні механізми токсичної дії іонів важких металів часто пов'язують з їх прооксидантними властивостями. [1, 2, 3, 4, 5] Більшість з цих металів має змінну валентність і може проявляти властивості "Фентон-металів", каталізуючи генерацію активних форм кисню за схемою:

$Me^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Me^{3+} + OH^- + OH^\cdot$ , де Me – іон металу змінної валентності [14].

Цинк, незважаючи на постійну валентність, також істотно впливає на редокс-статус клітин через зміну співвідношення вмісту тіолів у вільному стані та координованих зв'язками з цинком [15]. Крім того, відомо, що збільшення в системі рівня певного типу іонів металу призводить до змін вмісту й інших, які можуть мати характер як антагонізму, так і синергізму [7].

У попередніх наших дослідженнях було показано, що за дії на організм коропа іонів міді, цинку, марганцю та свинцю, а також їх суміші спостерігаються зменшення активності супероксиддисмутази, підвищення активності каталази, посилення пероксидації ліпідів, що свідчить про розбалансування системи антиоксидантного захисту [8]. Проте ці зміни не були пропорційні зростанню вмісту металів у середовищі. Тому становило інтерес дослідити, як впливає збільшення вмісту в середовищі іонів цих металів на вміст у печінці коропа іонів заліза, найважливішого металу в забезпеченні

процесів біологічного окиснення, а також макроелемента магнію, необхідного для забезпечення численних біологічних функцій [7, 9].

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження проводили на особинах коропа лускатого (*Cyprinus carpio L.*) масою 200-250 г. Дослідних риб виловлювали траловим методом із ставків Тернопільського обласного рибкомбінату (урочище Залісці) та адаптували до умов басейну протягом 7 діб.

Експериментальні умови створювали в басейнах об'ємом 200 л з кількістю риб з розрахунку 1 особина на 20 л води. Воду відстоювали і змінювали щодві доби. Температура води становила близько 18 °С.

У кожному лабораторному досліді одна група була контрольною, іншій (іншим) у воду додавали солі металів. Вміст у воді  $Cu^{2+}$  ( $CuSO_4$ )<sup>4</sup> складав 0,01, 0,2 або 0,5 мг/л;  $Zn^{2+}$  ( $ZnSO_4$ )<sup>4</sup> – 0,1, 2,0 або 5,0 мг/л;  $Mn^{2+}$  ( $MnCl_2$ ) – 0,13, 2,6 або 6,0 мг/л;  $Pb^{2+}$  ( $Pb(NO_3)_2$ ) – 0,01, 0,2 або 0,5 мг/л. При дослідженні дії суміші іонів вміст компонентів становив:  $Zn^{2+}$  – 0,1 мг/л,  $Cu^{2+}$  – 0,01 мг/л,  $Mn^{2+}$  – 0,13 мг/л,  $Pb^{2+}$  – 0,01 мг/л. Відповідний вміст аніонів у воді був на один або два порядки нижчим, ніж їх дозволений вміст у рибогосподарських водоймах [6], їх внесення в акваріум у суміші створювало значно меншу концентрацію. Риби перебували у воді 14 діб.

© А.Є. Мудра, 2004.

Вміст заліза, магнію та залізов'язувальну здатність визначали у 10 % (маса:об'єм) гомогенатах тканини, виготовлених на 10 мМ трис-НСІ буфері (рН-8,0) з 500 мг тканини, за допомогою гомогенізатора Поттера, стандартних наборів реактивів фірми "LACHEMA" (Чехія).

Результати подавали у вигляді  $M \pm m$ ,  $n=5-6$ . Достовірність відхилення двох рядів значень обчислювали з використанням t-критерію Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Досліджувані нами концентрації іонів металів у воді можна умовно позначити як "мала", що наближена до природного вмісту металів у воді, "середня" та "велика", які, відповідно, у 20 та 50 разів більші. Аналіз одержаних результатів (табл. 1) свідчить про те, що загальний вміст заліза та магнію в печінці є досить консервативним показником за умов експерименту. Вміст магнію зростає лише за дії малої концентрації міді, а в інших умовах відповідає контролю.

Загальний вміст заліза у тканині збільшується за дії малої концентрації іонів марганцю у воді, що узгоджується з інформацією про спільні шляхи транспорту для цих металів [7] та про зростання вмісту марганцю у печінці коропа за таких умов [10]. Зменшення його вмісту за дії свинцю також узгоджується з інформацією про антагонізм між утилізацією цих двох металів організмами [7]. Вплив міді та цинку в досліджуваному діапазоні концентрацій взагалі не викликає змін загального вмісту заліза у печінці, очевидно, у зв'язку з

різними транспортними системами для цих видів іонів.

Залізов'язуюча здатність тканини є чутливим показником до дії малої концентрації іонів міді й свинцю та середньої концентрації всіх досліджуваних іонів металів. У всіх цих експериментальних групах спостерігається її зменшення. Зіставлення загального вмісту заліза у тканині та вмісту його у фізіологічно доступній формі (залізов'язувальна здатність) свідчить про те, що вміст незв'язаного заліза у печінці коропа зростає за дії малих концентрацій міді, марганцю і свинцю та середніх концентрацій усіх досліджуваних металів. Отже, очевидно, саме в таких випадках у тканині створюються передумови для посилення прооксидантних процесів у результаті генерації активних форм кисню. Цей висновок узгоджується з нашими попередніми спостереженнями про найбільшу інтенсивність прооксидантних процесів у печінці коропа саме за дії середніх концентрацій іонів металів [8, 10, 11, 12, 13]. Оскільки, як було показано, дія порівняно малої концентрації досліджуваних металів супроводжується збільшенням вмісту металотіонеїнів, які мають антиоксидантну дію та зв'язують надлишок усіх металів-токсикантів, крім свинцю [9], то зміни вмісту заліза у тканині за цих умов не мають, очевидно, таких токсичних наслідків, як при дії середньої концентрації металів, коли функція антиоксидантних чинників тканини пригнічується і спостерігається зміщення антиоксидантно-прооксидантної рівноваги в бік прооксидантних процесів.

Таблиця 1 – Вміст заліза та магнію у печінці коропа за дії на організм іонів важких металів ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )

Вміст металу у воді, мг/л	Загальний вміст заліза, ммоль/г тканини	Загальна залізов'язувальна здатність, мкмоль/г тканини	Вміст магнію, ммоль/г тканини
Контроль	69,8±5,3	8,3±0,6	0,57±0,04
Мідь			
0,01	73,0±9,5	3,5±0,4 **	1,01±0,06**
0,20	61,3±5,3	5,4±0,3*	0,56±0,02
0,50	56,2±3,8	8,9±1,0	–
Цинк			
0,01	83,0±8,2	8,9±0,5	0,73±0,06
0,20	73,2±6,8	4,71±0,39*	0,54±0,05
0,50	65,7±3,8	8,1±0,6	–
Марганець			
0,01	98,8±3,2*	7,7±0,6	0,64±0,10
0,20	77,3±5,6	5,3±0,2**	0,6±0,04
0,50	65,7±2,2	9,36±1,20	–
Свинець			
0,01	47,8±4,8*	3,54±0,20**	0,73±0,07
0,20	65,4±5,3	4,6±0,5**	0,67±0,04
0,50	58,3±4,2	8,9±0,8	–

Примітка. \*,\*\* – відмінність, порівняно з контролем, достовірна,  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ .

Для кожного з досліджуваних металів не відзначено збільшення відмінностей порівняно з контролем у міру зростання вмісту токсиканту у воді. Навпаки, дія великої концентрації іонів кожного металу, так само, як і дія суміші іонів, відповідає вмісту досліджуваних показників на рівні контролю. Очевидно, така формальна нормалізація обміну заліза у тканині свідчить про пригнічення функції антистресорних систем печінки коропа.

ВИСНОВКИ. Аналіз одержаних результатів та наших попередніх досліджень свідчать про те, що загальна залізо зв'язувальна здатність печінки коропа може бути чутливим показником до токсичної дії іонів важких металів за умов перевищення компенсаторної функції спеціалізованих систем захисту тканини. Вміст заліза у тканині та її залізо зв'язувальна здатність за значного зростання вмісту металів у воді не відображають глибини ураження організму.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Антоняк Г.Л., Бабич Н.О., Сологуб Л.І., Снітинський В.В. Утворення активних форм кисню та система антиоксидантного захисту в організмі тварин // Біологія тварин. – 2000. – **2**, № 2. – С. 34-43.
2. Барабой В. А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // Успехи соврем. биологии. – 1991. – **111**, № 6. – С. 92- 931.
3. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. - К.: Наукова думка, 1997. – 419 с.
4. Баранник Т.В. Калиман П.А. Активность δ-аминолевулинатсинтазы в печени крыс при окислительном стрессе // Доп. НАН України. – 1999. – **10**. – С. 173-177.
5. Божков А.И. Три дозо-зависимые стадии действия ионов меди на функциональную активность биологических систем // Биохимия. – 1997. – **62**, № 2. – С. 176-186.
6. Воробьев В.И. Микроэлементы и их применение в рыбководстве. – М.: Пищевая промышл., 1979. – 183 с.
7. Ершов Ю.А., Плетенева Т.В. Механизмы токсического действия неорганических соединений. – М.: Медицина, 1989.- 272 с.
8. Мудра А.Є., Столяр О.Б. Вплив сублетальної концентрації йонів міді на метаболічну активність та прооксидантно-антиоксидантний стан гепатопанкреасу коропа // Наукові записки Тернопільського педуніверситету. Серія: Біологія. – 2001. – № 3 (14). – С. 218-219.
9. Роль металотіонеїнів в детоксикації іонів міді, цинку, марганцю та свинцю в організмі прісноводних риб і молюсків: Автореф. дис ... д-ра біол. наук: 03.00.04 / УААН. Інститут біології тварин. – Львів, 2004. – 30 с.
10. Столяр О.Б., Зінковська Н.Г., Мудра А.Є. Антиоксидантно-прооксидантний статус тканин коропа при дії на організм сублетальної концентрації марганцю (II) // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин – Львів, 2001. – Вип. 1-2. – С. 263-267.
11. Столяр О.Б., Зінковська Н.Г., Мудра А.Є. та ін. Антиоксидантно-прооксидантний статус організму коропа при дії сублетальної концентрації міді (II) // Наукові записки Тернопільського педуніверситету. Серія: Біологія. – 2000. – № 3 (10). – С. 72-78.
12. Столяр О.Б., Мудра А.Є., Зінковська Н.Г., Грубінко В.В. Прооксидантна та антиоксидантна дія марганцю (II) на організм коропа (*Cyprinus carpio* L.) // Біологія тварин. – 2002. – **4**, № 1-2. – С. 193-199.
13. 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. – 2001. – №1 (12). – С. 97- 100.
14. Kehler J.P. The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity // Toxicology. – 2000. – **149**, № 1. – P. 43-50.
15. Maret W., Vallee B.L. Thiolate ligands in metallothionein confer redox activity on zinc clusters // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 1998. – **95**, № 7. – P. 3478-3482.
16. Stolyar O., Mudra A. The effects of lead on the antioxidant status and lipid peroxidation in carp hepatopancreas // Annales Universitatis Marie Curie-Sklodowska. – 2002. – **15**, № 31. – P. 391 – 394.

## СОДЕРЖАНИЕ ЖЕЛЕЗА И МАГНИЯ В ПЕЧЕНИ КАРПА В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ СРЕДЫ СОЛЯМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

А.Е. Мудрая

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. В.Г. НАТЮКА

### Резюме

Исследовали действие ионов  $Zn^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  в воде в концентрациях, близких к природному содержанию и в 20,50 раз высших, на протяжении 14 суток у карпа чешуйчатого (*Cyprinus carpio* L.). Общая железосвязывающая способность печени карпа является чувствительным показателем к действию наименьшей концентрации ионов меди и свинца, а также средней концентрации всех исследуемых металлов. Общее содержание железа и магния в ткани возрастает при действии маленькой концентрации ионов марганца и уменьшается при действии свинца. Уровень магния увеличивается только при действии небольшой концентрации меди, а в других условиях соответствует контролю. Наивысшая концентрация металлов не вызывает изменений в метаболизме железа в печени карпа.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: карп, тяжелые металлы, железо, общая железосвязывающая способность, магний, прооксидантные процессы.

## IRON AND MAGNESIUM CONTENT IN CARP LIVER IN THE CONDITIONS OF ENVIRONMENT POLLUTION BY HEAVY METAL SALTS

A.Ye. Mudra

TERNOPIL STATE PEDAGOGICAL UNIVERSITY BY V.H. HNATIUK

### Summary

The action of  $Zn^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  ions in concentrations similar to natural content and in 20 and 50 times higher concentrations in carp (*Cyprinus carpio* L.) has been investigated during 14 days. Common iron-binding capacity of carp liver is a sensitive index to the action of the least concentration of lead and copper ions and medium concentration of all investigated metals. The general content of iron and magnesium in tissue is increasing in conditions of manganese ions small concentration and is decreasing in condition of lead ions action. Magnesium level is increasing only in conditions of small concentrated copper action. The largest metal concentration doesn't cause changes in metabolism of iron in carp liver.

KEY WORDS: carp, heavy metals, iron, common iron-binding capacity, magnesium, prooxidative processes.

Адреса для листування: А.Є. Мудра, вул. За Рудкою 14, кв. 63, Тернопіль, 46000, Україна.

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

## ЗМІНА СТУПЕНЯ ДЕГРАДАЦІЇ ФІБРОНЕКТИНУ ПРИ ГОСТРОМУ Q ІНФАРКТІ МІОКАРДА ТА ПІД ДІЄЮ АНТИТРОМБОТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ

Г.Б. Пелешенко<sup>1</sup>, О.А. Коваль<sup>1</sup>, А.П. Іванов<sup>2</sup>, А.І. Шевцова<sup>1</sup>  
ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ<sup>1</sup>  
КЛІНІЧНЕ ОБ'ЄДНАННЯ ШВИДКОЇ МЕДИЧНОЇ ДОПОМОГИ<sup>2</sup>

*Досліджено стан фібрoneктину (ФН) у плазмі крові при гострому Q інфаркті міокарда (QIM) та при застосуванні ад'ювантної антикоагулянтної терапії. Деградацію ФН визначали методом імуноблоту. Встановлено, що у плазмі крові при гострому QIM спостерігаються зміни спектра та частоти виявлення фрагментів ФН. Лікування із застосуванням антитромботичних препаратів призводить до зміни частоти окремих фрагментів ФН. Подальше зниження частоти та зникнення фрагмента 90 kDa можуть свідчити про терапевтичний ефект дії антитромботичних препаратів.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** фрагменти фібрoneктину, гострий Q інфаркт міокарда, діагностика, терапія.

**ВСТУП.** Фібрoneктин (ФН), глікопротеїн плазми крові та екстраклітинного матриксу з молекулярною масою 450 kDa [5], бере участь у багатьох біохімічних процесах, що мають місце при серцево-судинних захворюваннях [4]. Відомо, що він впливає як на процеси формування атеросклеротичних бляшок [1], так і на тромботичні, запальні, ангіогенні та фібротичні процеси при загоюванні інфаркту міокарда [7]. Виходячи з цього, слід очікувати, що зміни кількості ФН будуть відображати стан хворого на інфаркт міокарда. Однак результати багатьох досліджень не дали позитивного результату [2].

Ми вважаємо, що прогресу в прогнозуванні стану хворого та оцінці ефективності лікування можна досягнути за дослідження фрагментованості ФН. Передумовою для цього припущення були дані Kameda et al., що коронарні ураження супроводжуються підвищенням активності матриксних металопротеїназ, що розщеплюють ФН [3].

Тому метою роботи було дослідження фрагментованості ФН у плазмі крові при гострому Q-інфаркті міокарда (QIM) та під дією ад'ювантної антикоагулянтної терапії.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Матеріалом дослідження була плазма крові здорових

© Г.Б. Пелешенко, О.А. Коваль – д.мед.н., проф., А.П. Іванов, А.І. Шевцова – д.біол.н., проф., 2004.

донорів (1-ша група, n=10) та хворих на QIM (2-га група, n=22), яких госпіталізували у перші 6 год від початку захворювання. До 1-ї групи ввійшли жінки віком від 21 до 44 років (середній вік – (31±5,3) року). 2-гу групу склали хворі на QIM (18 чоловіків, 4 жінки) віком від 43 до 78 років середній вік – (61±2,8) року). Всі хворі отримували тромболітичну терапію (ТЛТ) альтеплазою і стрептокіназою згідно із стандартною схемою. Ад'ювантну антитромботичну терапію було проведено з використанням еноксапарину та гепарину. Забір крові у хворих здійснювали зразу при надходженні, до початку ТЛТ (2 група), після закінчення активної антитромботичної терапії на 8 добу захворювання (2а група).

Деградацію ФН плазми крові визначали методом імуноблоту з використанням кролячих антитіл до ФН плазми крові людини (DAKO, Данія) та кон'югованих з пероксидазою хрому антикролячих антитіл (BioRad, США). Як негативний та позитивний контроль для ФН плазми крові людини застосовували відповідні стандарти з тест-набору ІФА-ФН (НВО Імунотех, Росія).

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати проведених досліджень представлено у таблиці 1. Як видно з таблиці, у плазмі крові хворих на QIM спостерігається більш широкий спектр фрагментів ФН. Частота виявлення фрагментів



ФН з М.м. 180 і 150-100 kDa є більш високою, а частота виявлення фрагментів з М.м. 170-160 kDa – більш низькою у плазмі крові при QIM.

При дослідженні деградації ФН у динаміці лікування виявлено, що у плазмі крові хворих на QIM на 8 добу після застосування антикоагулянтної терапії спостерігаються вірогідні зниження частоти фрагментів ФН з М.м. 110-100 kDa та підвищення частоти фрагментів 170-160, 90 і 50-40 kDa.

Утворені фрагменти ФН, похідні від різних доменів молекули ФН, зберігають спорідненість до відповідних лігандів та набувають нової біологічної активності. Особливої уваги заслуговує фрагмент ФН з М.м. 90 kDa, що за

даними літератури володіє стрептокіназною активністю [6]. Цей фрагмент є показником тромботичних ускладнень QIM. За нашими даними цей фрагмент виявлявся на 8 добу після лікування у 100 % хворих з тромботичними ускладненнями, і лише у 50 % хворих з іншими ускладненнями або без ускладнень. Збільшення його кількості на 8 добу захворювання може бути результатом активації протеолітичних процесів внаслідок одноразового введення тромболітика, який активує утворення цього фрагменту, що в свою чергу активує каскад протеолітичних реакцій. Зникнення цього фрагменту супроводжується зменшенням спектру фрагментів ФН та може свідчити про ефективність лікування.

Таблиця 1 – Частота виявлення у % фрагментів фібронектину у плазмі крові здорових (1 група) та у хворих на гострий Q інфаркт міокарду до (2 група) та після лікування (2а група), М±m

Досліджувані групи	Молекулярна маса фрагменту, kDa										
	220	180	170-160	150	140-130	120	110-100	90	72-60	50-40	19-15
1 група, n=10	80,0± 2,3	20,0± 2,8	80,0± 2,3	40,0± 3,2	60,0± 1,9	20,0± 3,4	60,0± 2,4	20,0± 3,2	–	20,0± 3,0	–
2 група, n=22	50,0± 2,3*	50,0± 2,2**	60,0± 2,2*	60,0± 3,1	100,0± 1,7**	50,0± 1,8**	80,0± 2,0*	30,0± 2,1	30,0± 2,2	20,0± 1,2	20,0± 1,0
2а група, n=22	50,0± 2,3	40,0± 1,2	80,0± 1,3***	70,0± 1,2	90,0± 1,0	50,0± 1,0	60,0± 1,1***	50,0± 2,3***	30,0± 2,9	40,0± 2,3***	20,0± 1,0

Примітки. \* – достовірність різниці по відношенню до 1 групи (p<0,05), \*\* – достовірність різниці по відношенню до 1 групи (p<0,01), \*\*\* – вірогідність різниці по відношенню до 2 групи (p<0,05).

**ВИСНОВКИ.** 1. Встановлено, що спектр фрагментів ФН змінюється у плазмі крові хворих на QIM. Спостерігаються поява фрагментів ФН з М.м. 72-60 і 19-15 kDa, вірогідні підвищення частоти виявлення фрагментів з М.м. 180 і 150-100 kDa та зниження частоти виявлення фрагментів ФН з М.м. 170-160 kDa.

2. Під дією антикоагулянтної терапії у плазмі крові хворих на QIM відбуваються вірогідні зниження частоти фрагментів ФН з М.м. ФН 110-100 kDa та підвищення частоти фрагментів 170-160, 90 і 50-40 kDa.

3. Зникнення фрагменту ФН з М.м. 90 kDa може вказувати на ефективність антикоагулянтної терапії.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Гаврилов О.К., Лехомахер С.С., Магомедов Н.Г. и др. Содержание фибронектина в плазме крови больных ишемической болезнью сердца и возможности его коррекции экстракорпоральными методами // Кардиология. – 1995. – № 1. – С. 18-20.  
2. Титов В.Н., Ермолин Г.А., Руда М.Я. и др. Динамика уровня фибронектина крови при инфаркте миокарда // Терапевтический архив. – 1985. – 57, № 5. – С. 47-52.  
3. Kameda K., Matsunaga T., Abe N. et al. Correlation of oxidative stress with activity of matrix metalloproteinase in patients with coronary artery

disease. Possible role for left ventricular remodelling // European Heart Journal. – 2003. – 24. – P. 2180-2185.  
4. Magnusson M., Mosher D.F. Fibronectin: structure, assembly and cardiovascular implications // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 1998. – 18. – P. 1363-1370.  
5. Manabe R., Oh-e N., Maeda T. et al. Modulation of cell-adhesive activity of fibronectin by the alternatively spliced EDA segment // J. Cell. Biol. – 1997. – 139, № 1. – P. 295-307.  
6. Sharma A., Askari J.A., Humphries M.J. et al.

Crystal structure of a heparin- and integrin-binding segment of human fibronectin // EMBO. – 1999. – **18**. – P. 1468-1479.

7. Willems I.E., Arends J.W., Daemen M.J. Tensin and fibronectin expression in healing human myocardial scars // J. Pathol. – 1996. – **179**, № 3. – P. 321-325.

## ИЗМЕНЕНИЕ СТЕПЕНИ ДЕГРАДАЦИИ ФИБРОНЕКТИНА ПРИ ОСТРОМ Q ИНФАРКТЕ МИОКАРДА И ПОД ДЕЙСТВИЕМ АНТИТРОМБОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

**А.Б. Пелешенко<sup>1</sup>, Е.А. Коваль<sup>1</sup>, А.П. Иванов<sup>2</sup>, А.И. Шевцова<sup>1</sup>**  
ДНЕПРОПЕТРОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ<sup>1</sup>  
КЛИНИЧЕСКОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ СКОРОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ<sup>2</sup>

### Резюме.

Исследовано состояние фибронектина (ФН) в плазме крови при остром Q инфаркте миокарда (QИМ) и при применении адъювантной антикоагулянтной терапии. Дegradацию ФН определяли методом иммуноблота. Установлено, что в плазме крови при остром QИМ наблюдаются изменения спектра и частоты обнаружения фрагментов ФН. Лечение с применением антитромботических препаратов приводит к изменению частоты отдельных фрагментов ФН. Дальнейшее снижение частоты и исчезновение фрагмента 90 kDa могут свидетельствовать о терапевтическом эффекте действия антитромботических препаратов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фрагменты фибронектина, острый Q инфаркт миокарда, диагностика, терапия.

## THE ALTERATION OF DEGREE OF FIBRONECTIN DEGRADATION AT ACUTE Q MYOCARDIAL INFARCTION AND UNDER THE ACTION OF ANTITHROMBOTIC DRUGS

**H.B. Peleshenko<sup>1</sup>, O.A. Koval<sup>1</sup>, A.P. Ivanov<sup>2</sup>, A.I. Shevtsova<sup>1</sup>**  
DNIPROPETROVSK STATE MEDICAL ACADEMY<sup>1</sup>  
CLINICAL JOINT OF EMERGENCY HOSPITAL<sup>2</sup>

### Summary

The state of fibronectin (FN) in blood plasma at acute Q myocardial infarction (QMI) and under the application of adjuvant anticoagulant therapy was investigated. The degradation of FN was determined by immunoblotting method. It was established that at QMI the alterations of spectrum and of frequency of detection of FN fragments are observed in blood plasma. The treatment with antithrombotic drugs causes the alteration of frequency of separate FN fragments. The further decrease of frequency and disappearance of fragment 90 kDa may testify to therapeutic effect of antithrombotic drugs action.

KEY WORDS: fibronectin fragments, acute Q myocardial infarction, diagnosis, therapy.

Адреса для листування: Г.Б. Пелешенко, Дніпропетровська державна медична академія, кафедра біохімії та загальної хімії, вул. Дзержинського, 9, Дніпропетровськ, 49044, Україна.

## ЕМОЦІЙНИЙ СТРЕС НА ТЛІ НЕДОСТАТНОСТІ ГОНАД ПІДСИЛЮЄ РОЗПАД НЕКОЛАГЕНОВИХ БІЛКІВ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ РІЗНИХ ВІДДІЛІВ СКЕЛЕТА

М.В. Білець, Л.М. Тарасенко

УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ, ПОЛТАВА

*В експерименті на 56 статевозрілих щурах встановлено, що емоційний стрес на фоні недостатності гонад підсилює катаболічні процеси в органічному матриксі кісткової тканини порівняно з парціальним впливом обох чинників. Найбільш уразливою ділянкою скелету при дизрегуляції метаболізму є кісткова тканина нижньої щелепи.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** кісткова тканина, емоційний стрес, недостатність гонад, гексуронові кислоти, сіалові кислоти, фукоза.

**ВСТУП.** Кісткова тканина (КТ) є динамічною системою, для якої характерні два різнонаправлених процеси: утворення нової тканини остеобластами і резорбція старої – остеокластами. Обидва процеси тісно пов'язані між собою та об'єднані поняттям "ремоделювання кістки" [6, 7]. Початковий етап ремоделювання КТ здійснюють активовані остеокласти, які з участю лізосомальних ферментів резорбують поверхню кістки. На наступному етапі резорбційна порожнина заповнюється компонентами органічного матриксу та кальцій-фосфорними солями [2, 6]. У процесі ремоделювання значна роль належить неколагеновим білкам: протеогліканам (ПГ) і глікопротеїнам (ГП) [5, 8]. ПГ взаємодіють з колагеном, еластином і обумовлюють зв'язок колагену та кристалів апатитів, за рахунок чого забезпечують механічні властивості КТ [8, 11, 12]. Але відомості про зміни складу неколагенових білків при дії різних патогенних чинників на КТ досить обмежені [6].

Мета даного дослідження – вивчити вплив емоційного стресу на фоні недостатності гонад на рівень неколагенових білків КТ різних відділів скелета.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Експерименти виконані на 56 статевозрілих щурах лінії Вістар обох статей масою 180-220 г з дотриманням рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень відповідно до Європейської конвенції. Природну модель емоційного

© М.В. Білець, Л.М. Тарасенко, 2004.

стресу (ЕС) відтворювали за методом Є.А. Юматова [10]. Двосторонню кастрацію самців і самок проводили під ефірним наркозом за 20 днів до відтворення стресу. Тварин кожної статі поділяли на 5 груп: 1-ша – інтактні (n=6); 2-га – несправжня кастрація (n=5); 3-тя – недостатність гонад (n=5); 4-та – емоційний стрес (n=6); 5-та – недостатність гонад + емоційний стрес (n=6). Евтаназію щурів проводили через чотири доби після моделювання стресу під гексеналовим наркозом шляхом кровопускання. Про вміст неколагенових білків у КТ судили на підставі визначення у різних відділах скелета (нижній щелепі, стегновій кістці й хребцях) рівня гексуронових [4] і сіалових кислот [3] та фукози [4]. Дані дослідження обробляли з використанням t-критерію Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Наведені в таблиці 1 дані свідчать про те, що недостатність гонад не викликає достовірної зміни вмісту гексуронових кислот у досліджуваних ділянках КТ щурів обох статей. ЕС у самців сприяє збільшенню в 1,4 раза концентрації гексуронових кислот у нижньощелепній кістці порівняно з інтактними тваринами. У всіх досліджуваних ділянках скелета самок та у стегновій кістці й хребцях самців ЕС не викликає зміни концентрації гексуронових кислот. Але поєднаний вплив недостатності гонад і ЕС достовірно підвищує в 1,9 раза у самців і в 1,5 раза у самок рівень гексуронових

кислот у нижньощелепних кістках; в 1,5 раза – в стегнових кістках самців; в 1,3 рази – в хребцях самців та в 1,2 раза – в хребцях самок (табл. 1). Такий характер змін свідчить про підсилення процесів деградації протеогліканів, вуглеводними компонентами яких є гексуронової кислоти.

Як видно з таблиці 1, за умов ЕС спостерігалось достовірне підвищення в 1,3 раза вмісту сіалових кислот тільки в нижньощелепних кістках самок. Кастрація самок істотних змін показників КТ не викликала. Але поєднаний вплив недостатності гонад та ЕС достовірно збільшив в 1,3 раза рівень сіалових кислот у нижньощелепних кістках самців та в 1,7 раза – у самок. За цих умов в стегнових кістках у

самців і самок рівень сіалових кислот збільшився в середньому в 1,4 раза. Одночасно при цьому у самок мало місце збільшення в 1,4 раза рівня сіалових кислот в хребцях. Отже, сполучений вплив недостатності гонад та ЕС посилює розпад сіалопротеїнів кісткової тканини. Рівень фукози в КТ вірогідно не змінювався в жодній з досліджуваних груп тварин обох статей. Таким чином, поєднаний вплив кастрації та ЕС сприяє підсиленню деградації ПГ і ГП у кістковій тканині щурів обох статей.

ПГ відіграють важливу роль в ініціації процесів мінералізації кісткової тканини, тому підсилення деполімеризації вказаних білків призводить до порушення мікроархітектури

Таблиця 1 – Вміст вуглеводних компонентів неколагенових білків у кістковій тканині щурів при поєднаній дії недостатності гонад і емоційного стресу (M+m)

Об'єкт дослідження. Показники	Інтактні тварини	Несправжня кастрація	Недостатність гонад	Емоційний стрес	Недостатність гонад+ емоційний стрес
Самці					
<i>Нижня щелепа</i>					
–гексуронової кислоти, мкмоль/г	1,55±0,07	1,60±0,05	1,60±0,02	2,20±0,13*	2,90±0,30*
–сіалові кислоти, мкмоль/г	1,96±0,04	1,74±0,01	1,84±0,07	2,37±0,18	2,58±0,15*
–фукоза, мкмоль/г	1,35±0,06	1,37±0,05	1,42±0,07	1,56±0,09	1,62±0,08
<i>Стегнова кістка</i>					
–гексуронової кислоти, мкмоль/г	1,76±0,15	1,80±0,05	1,92±0,03	2,44±0,19	2,67±0,17*
–сіалові кислоти, мкмоль/г	1,71±0,04	1,66±0,06	1,89±0,05	2,30±0,20	2,44±0,09*
–фукоза, мкмоль/г	1,40±0,10	1,39±0,12	1,37±0,06	1,39±0,09	1,43±0,05
<i>Хребці</i>					
–гексуронової кислоти, мкмоль/г	2,12±0,08	2,13±0,07	2,40±0,05	2,46±0,24	2,85±0,18*
–сіалові кислоти, мкмоль/г	2,22±0,08	2,21±0,19	1,19±0,09	2,36±0,13	2,10±0,07
–фукоза, мкмоль/г	1,39±0,12	1,41±0,07	1,40±0,03	1,46±0,10	1,50±0,06
Самки					
<i>Нижня щелепа</i>					
–гексуронової кислоти мкмоль/г	1,30±0,04	1,20±0,10	1,80±0,07	1,67±0,10	1,97±0,12*
–сіалові кислоти, мкмоль/г	1,60±0,07	1,48±0,04	1,80±0,17	2,02±0,04*	2,64±0,15*
–фукоза, мкмоль/г	1,32±0,07	1,30±0,09	1,35±0,12	1,48±0,08	1,64±0,10
<i>Стегнова кістка</i>					
–гексуронової кислоти мкмоль/г	1,85±0,09	1,40±0,05	1,86±0,17	1,70±0,13	3,05±0,48
–сіалові кислоти, мкмоль/г	1,57±0,09	1,53±0,03	1,40±0,01	1,72±0,13	2,28±0,18*
–фукоза, мкмоль/г	1,36±0,09	1,37±0,08	1,40±0,05	1,39±0,10	1,42±0,05
<i>Хребці</i>					
–гексуронової кислоти мкмоль/г	2,20±0,07	2,06±0,03	2,03±0,09	2,40±0,29	2,72±0,09*
–сіалові кислоти, мкмоль/г	1,52±0,09	1,66±0,03	1,89±0,12	1,73±0,07	2,10±0,08*
–фукоза, мкмоль/г	1,38±0,04	1,39±0,07	1,40±0,14	1,40±0,12	1,49±0,09

Примітка: \* – P<0,05 порівняно з інтактними щурами.

кісткової тканини [5, 11]. Хронічний ЕС характеризується активацією гіпоталамо-гіпофізарно-наднирковозалозної та симпатoadреналової систем. Підвищення секреції стресорних гормонів призводить до зниження експресії генів деяких білків органічного матриксу КТ, зокрема колагену [5]. Вони також гальмують адсорбцію кальцію в кишечнику, що сприяє розвитку остеопорозу [5]. Нами доведено, що при ЕС посилення демінералізації КТ найбільш виражене в альвеолярному відростку щелепних кісток [9]. Така ж закономірність зміни вмісту неколагенових білків у КТ нижніх щелеп спостерігається за умов поєднаної дії недостатності гонад та ЕС.

Естрогени знижують активність остеокластів, які активують резорбцію КТ. Вони пригнічують синтез простагландинів, стимулюють утворення інсуліноподібного фактора росту-1 (ІФР-1) і залежних від нього білків, які відповідають за активацію трансформуючого фактора росту- $\beta$  (ТФР- $\beta$ ), що інгібує резорбцію КТ [8, 9]. Андрогенам притаманний виражений анаболічний вплив на кісткову тканину. Статеві

гормони, зв'язуючись із специфічними рецепторами остеобластів, активують синтез колагенових і неколагенових білків КТ. При дефіциті андрогенів зменшується секреція кальцитоніну та порушується синтез кальцитріолу, що сприяє демінералізації КТ [1].

Отже, при зниженні рівня статевих гормонів і активації глюкокортикоїдної функції надниркових залоз при стресі підсилюються катаболічні процеси в органічному матриксі КТ, про що свідчить підвищений вміст гексуринових та сіалових кислот.

**ВИСНОВКИ.** 1. Поєднаний вплив недостатності гонад та емоційного стресу підсилює деградацію протеогліканів та глікопротеїнів кісткової тканини різних відділів скелета у тварин обох статей, про що свідчить підвищення вмісту окремих мономерів неколагенових білків – гексуринових та сіалових кислот.

2. Найбільш чутливою до патогенного впливу кастрації та емоційного стресу ділянкою скелета є кісткова тканина нижніх щелеп.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Вербовой А.Ф. Профессиональные остеопатии // Вестник Рос. акад. мед. наук. – 2002. – № 4. – С. 37-41.

2. Жилкин Б.А., Денисов-Никольский Ю.И., Докторов А.А. Структурная организация минерального компонента пластинчатой кости и процесс его формирования // Усп. современ. биол. – 2003. – **123**, № 6. – С.590-598.

3. Камышников В.С. Клиническая биохимия. – Минск, : Беларусь, 2000. – **2**. – 463 с.

4. Леонтьев В.К., Гайдамака А.Н. Методы определения белковосвязанных углеводов в минерализованных тканях // Лаб. дело. – 1975. – № 5. – С. 35-38.

5. Порознюк В.В., Мазур И.П. Костная система и заболевания пародонта. – К., 2003. – 446 с.

6. Риггз Лоренс Б., Мелтон III Джозеф Л. Остеопороз. Этиология, диагностика, лечение. – СПб.: ЗАО "Изд-во БИНОМ", 2000. – 560 с.

7. Рожинская Л.Я. Остеопороз: диагностика нарушенной метаболизма костной ткани и кальций-

фосфорного обмена // Клин. лаб. диагностика. – 1998. – № 5. – С. 25-32.

8. Ступаков Г.П., Воложин А.И. Костная система и невесомость. Проблемы космической биологии. – М.: Наука, 1989. – 63. – 184 с.

9. Тарасенко Л.М., Непорада К.С. Роль центральных нейрогенных механизмов у развитии остеопороза щелепных костей // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2000. – № 4. – С. 59-61.

10. Юматов Е.А., Певцова Е.И., Мезенцева Л.И. Физиологически адекватная модель агрессии и эмоционального стресса // Журн. высшей нервной деятельности. – 1988. – **38**, № 2. – С. 350-354.

11. Franzen A., Heinigard D. Characterization of proteoglycans from the calcified matrix of bovine bone // Biochem. J. – 1984. – **224**. – P. 59-66.

12. Grzesik W.J., Gehron Robey P. Bone matrix RGD-glycoproteins: immunolocalization and their interaction with human primary osteoblastic bone cells in vitro // J. Bone Miner. Res. – 1994. – **9**. – P. 487-496.



# ЭМОЦИОНАЛЬНЫЙ СТРЕСС НА ФОНЕ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ГОНАД УСИЛИВАЕТ РАСПАД НЕКОЛЛАГЕНОВЫХ БЕЛКОВ КОСТНОЙ ТКАНИ РАЗНЫХ ОТДЕЛОВ СКЕЛЕТА

М.В. Билец, Л.М. Тарасенко

УКРАИНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ, ПОЛТАВА

## Резюме

*В эксперименте на 56 половозрелых крысах установлено, что эмоциональный стресс на фоне недостаточности гонад усиливает катаболические процессы в органическом матриксе костной ткани по сравнению с парциальным влиянием обеих факторов. Наиболее уязвимым участком скелета при дисрегуляции метаболизма является ткань нижней челюсти.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** костная ткань, эмоциональный стресс, недостаточность гонад, гексуроновые кислоты, сиаловые кислоты, фукоза.

# EMOTIONAL STRESS AGAINST A BACKGROUND OF THE GONAD INSUFFICIENCY INCREASES THE BREAK-UP OF NON-COLLAGENOUS BONE TISSUE PROTEINS OF DIFFERENT SKELETAL ZONES

M.V. Bilets, L.M. Tarasenko

UKRAINIAN MEDICAL STOMATOLOGICAL ACADEMY, POLTAVA

## Summary

*In the experiment on 56 Wistar rats it has been found out that the emotional stress against a background of the gonad insufficiency strengthens catabolic processes in the organic matrix of the bone tissue in comparison to the partial influence of the both factors. The most vulnerable skeletal zone at metabolism disregulation is bone tissue of mandible.*

**KEY WORDS:** bone tissue, emotional stress, gonad insufficiency, hexurone acids, sialone acids, fucosa.

**Адреса для листування:** М.В. Білець, Укрїнська медична стоматологічна академія, вул. Шевченка, 23, Полтава, 36024, Україна.

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

## ЗМІНИ КОНЦЕНТРАЦІЇ $\text{NO}_2^-$ В БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ ПРИБ ЗАХВОРЮВАННІ НА РАК ШЛУНКА

**О.Я. Складров, Н.В. Фартушок, І.П. Федорович, Ю.М. Федевич, О.М. Колінковський**  
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

*Нітрит-аніон ( $\text{NO}_2^-$ ) є стабільним та активним продуктом газоподібного NO. Наші дослідження показали, що рівень  $\text{NO}_2^-$  в біологічних рідинах організму відображає зміни, які мають місце при наявності пухлини. Спектрофотометричне визначення  $\text{NO}_2^-$  та L-аргініну – простий, доступний клінічний тест, який є цінним для моніторингу лікування пухлин, особливо за допомогою L-аргініну, NO-донаторів та NOS-інгібіторів.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** оксид азоту, рак шлунка, нітрит-аніон, розмір пухлини.

**ВСТУП.** Епідеміологічні дослідження вказують, що рак шлунка є однією з найважливіших причин смертності в Україні й усьому світі. Головним фактором, від якого залежить лікування, є своєчасна ідентифікація пухлин. Тому розробка доступного тесту для адекватної діагностики неопластичних процесів на доклінічному етапі є необхідною для моніторингу лікування та виявлення ускладнень, зокрема метастазів.

Оксид азоту (NO) привертає увагу багатьох дослідників у зв'язку з виявленням його важливих біологічних функцій. У газоподібному стані він легко дифундує через мембрани, швидко реагує з киснем та іншими сполуками, утворюючи нітрогендіоксиди, пероксинітри, нітри, і нітрати. Усі ці продукти можуть повторно перетворюватися в активну форму: нітрит – гемоглобіновим, нітрит – міоглобіновим або іншими шляхами [2].

NO реагує із залізом у гемовмісних білках або з FeS-центрами, модулюючи активність внутрішньоклітинних ферментів [13]. Пероксинітрит ( $\text{ONOO}^-$ ) як високоактивний агент утворюється при взаємодії NO із супероксиданіоном [11].

Щодо значення NO в регуляції діяльності шлунково-кишкового тракту, то він відіграє важливу роль у регенерації епітелію, впливаючи на активність секреції та продукції слизу [10]. Ця сполука регулює тонус судин і кровотік у підслизовій оболонці [7], призводить до адекватної релаксації гладеньком'язових клітин і, таким чином, діє на моторику [5].

© О.Я. Складров, Н.В. Фартушок, І.П. Федорович, Ю.М. Федевич, О.М. Колінковський, 2004.

Проте інформація про роль NO у розвитку канцерогенезу є суперечливою. NO – сполука, що впливає на інвазію метастазів. У всіх цих процесах дана молекула може брати участь у нейтральній або зарядженій формі ( $\text{NO}^\bullet$ ,  $\text{NO}^-$ ,  $\text{NO}^+$ ) як продукт взаємодії з активними формами кисню, а також у транспортуючій (нітрозотіолі, залізодінітрозильні комплекси).

NO бере опосередковану участь під час ініціації пухлинного росту, коли природні кілери і макрофаги вбивають пухлинні клітини [3]. NO також може супресувати пухлинний захист [14] та стимулювати ангиогенез пухлин і постачання в них крові [4].

L-аргінін є субстратом для утворення ендогенного оксиду азоту в NO-синтазній реакції. Він також відомий як один із складових компонентів у протипухлинних реакціях [8, 9].

Метою цієї роботи було вивчити роль нітрит-аніона ( $\text{NO}_2^-$ ) як стабільного продукту газоподібного NO і L-аргініну в біологічних рідинах контрольної групи та пацієнтів із карциномою шлунка.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Об'єктами дослідження були сироватка крові, сеча та слина. Обстеженню підлягало 10 донорів (5 жінок, 5 чоловіків) та 34 (12 жінок, 22 чоловіки) хворих із карциномою кардіальної частини шлунка (2-3 стадії) до хірургічного втручання. Розміри пухлин та наявність локальних метастазів оцінювали під час операції. Кров брали натще з додаванням антикоагулянту 3,8 % натрію цитрату. Отриманий матеріал підлягав дослідженню відразу після забору або після замороження ( $-15^\circ\text{C}$ ) не довше 24 год.

Визначення нітрит-аніона проводили за допомогою кольорової реакції з реактивом Гріса [6, 12]. Визначення L-аргініну – спектрофотометричним методом при  $\lambda=500$  нм. Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали, використовуючи критерій Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У 18 хворих було виявлено пухлини розміром понад 5 см. У 8 з них мали місце метастази в регіонарних лімфатичних вузлах та брижі. Вони склали 1-шу групу пацієнтів. У 16 хворих виявлено пухлини значно меншого розміру, віддалені метастази та проростання у прилеглі тканини були відсутні. Вони ввійшли до 2-ї групи (табл. 1).

У хворих 1-ї групи вміст NO у крові збільшився у 2,1 раза, у сечі – в 4,6 раза, у слині – в 14,4 раза (табл. 2).

Підвищення виділення  $\text{NO}_2^-$  із сечею та слиною свідчить про посилену його продукцію нирками та слинними залозами за участю

індуцибельної NO-синтази. Відомо, що у хворих з онкологічною патологією зростає активність індуцибельної NO-синтази у нирках та низці інших органів. Активація даного ензиму за цих умов відбувається за рахунок дії метаболітів, факторів росту пухлин, інтерлейкінів тощо [1].

Слід відзначити, що при більшому розмірі пухлини показники концентрації  $\text{NO}_2^-$  у досліджуваних рідинах були більшими.

Таким чином, концентрація  $\text{NO}_2^-$  у сироватці крові, сечі та слині відображає загальні зміни утворення NO в організмі, що відбуваються при порушенні метаболізму.

Із таблиці видно, що L-аргінін є субстратом для утворення ендogenous NO шляхом NO-синтазної ферментативної реакції. При дослідженні концентрації L-аргініну в сироватці крові та сечі ми не виявили значних відмінностей між контрольною і дослідною групами. Ця різниця становить усього 10 % в обох досліджуваних об'єктах (слина і сироватка крові).

Таблиця 1 – Характеристика досліджуваних груп

Група	Кількість осіб	Середній вік	Розмір пухлин
Контроль	10	54,5±4,5	–
1-ша	18	58,7±6,3	>5 см
2-га	16	51,6±4,1	<5 см

Таблиця 2 – Рівень  $\text{NO}_2^-$  в сироватці крові, сечі та слині хворих і донорів, мкмоль/л

Група	Сироватка крові	Сеча	Слина
Контроль	4,56±0,54	3,54±0,44	3,89±0,54
1-ша	9,68±0,78 p<0,001	16,24±0,98 p<0,001	55,90±4,3 p<0,001
2-ша	6,44±0,58 p<0,05	4,18±0,38*	38,72±3,82 p<0,05

Примітка. p подано порівняно з контролем; \* – недостовірно порівняно з контролем.

Таблиця 3 – Концентрація L-аргініну в сироватці крові та слині донорів і пацієнтів у досліджуваних групах, мг/мл

Група	Сироватка крові	Слина	p
Контроль	7,78±0,68	5,62±0,42	
Рак шлунка	8,62±0,98	6,02±0,32	p<0,05

Примітка. p подано порівняно з контролем.

**ВИСНОВКИ.** Рівні  $\text{NO}_2^-$  в сироватці крові, сечі та слині зростають при наявності пухлини та залежать від її величини. Для отримання результатів використовують слину і сечу, а їх

забір є простим, неінвазивним та нетравматичним. Визначення вмісту  $\text{NO}_2^-$  поряд з іншими показниками може бути простим, доступним і досить інформативним тестом.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Винк Д.А., Водовоз Й., Кук Дж.А. и др. Значение химических свойств оксида азота для лечения онкологических заболеваний // Биохимия. – 1998. – 63, вып. 7. – С. 948-957.

2. Петренко Ю.М., Шашурин Д.А., Титов В.Ю. Новые источники оксида азота, их возможная физиологическая роль и значение // Эксп. и клин. фармакология. – 2001. – 64, № 2. – С. 72-80.

3. Cifone M.G., D'Alo S., Parroni R. et al. Interleukin-2-Activated Rat Natural Killer Cells Express Inducible Nitric Oxide Synthase That Contributes to Cytotoxic Function and Interferon-gamma Production // *Blood*. – 1999. – № 93. – P. 3876-3884.
4. Fukumura D., Jain R.K. Role of nitric oxide in angiogenesis and microcirculation in tumors // *Cancer Metastasis Rev.* – 1998. – № 17. – P. 77-89.
5. Ghosh S., Gachhui R., Crooks C. et al. Interaction between Caveolin-1 and the Reductase Domain of Endothelial Nitric-oxide Synthase. Consequences for catalysis // *J. Biol. Chem.* – 1998. – № 273. – P. 22267-22271.
6. Green L.C., Wagner D.A., Glogowski J., et al. Analysis of nitrate, nitrite, and [<sup>15</sup>N] nitrate in biological fluids // *Anal. Biochem.* – 1982. – № 126. – P. 131-138.
7. Hecht G. Innate mechanisms of epithelial host defense: spotlight on intestine // *Am. J. Physiol.* – 1999. – № 277. – P. 351-358.
8. Matthews N.E., Adams M.A., Maxwell L.R. et al. Nitric Oxide-Mediated Regulation of Chemosensitivity in Cancer Cells // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2001. – № 93. – P. 1879-1885.
9. Marcelo N. Muscara, John L. Wallace. Nitric oxide V. Therapeutic potential or nitric oxide donors and inhibitors // *AJP-Gastrointestinal and Liver Physiology. Canada*. – 1999. – **276**, № 6. – P. G1313-G1316.
10. Mourad F.H., O'Donnell L.J., Andre E.A. et al. L-Arginine, nitric oxide, and intestinal secretion: studies in rat jejunum in vivo // *Gut*. – 1996. – № 39. – P. 539-544.
11. Nakamura Y., Colburn N.H., Gindhart T.D. Role of reactive oxygen in tumor promotion: implication of superoxide anion in promotion of neoplastic transformation in JB-6 cells by TPA // *Carcinogenesis (Lond.)*. – 1985. – № 6. – P. 229-235.
12. Schmidt H.H.W. Determination of Nitrite and Nitrate in Culture Media // *Acta Biochemica*. – 1995. – № 2. – P. 23-28.
13. Starke D.W., Chen Y., Bapna C.P. et al. Sensitivity of protein sulphhydryl repair enzymes to oxidative stress // *Free Radic. Biol. Med.* – 1997. – № 23. – P. 373-384.
14. Trikha P., Sharma N., Athar M. Nitroglycerin: a NO donor inhibits TPA-mediated tumor promotion in murine skin // *Carcinogenesis*. – 2001. – № 22. – P. 1207-1211.

## ІЗМЕНЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ NO<sub>2</sub><sup>-</sup> В БІОЛОГІЧЕСЬКИХ ЖІДКОСТЯХ ПРИ ЗАБОЛЕВАННІ РАКОМ ЖЕЛУДКА

**А.Я. Складаров, Н.В. Фартушок, І.П. Федорович, Ю.М. Федевич, А.М. Колинковський**  
Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

### Резюме

Нитрит-аніон (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) являється стабільним і активним продуктом газообразного NO. Наші дослідження показали, що рівень NO<sub>2</sub><sup>-</sup> в біологічних жидкостях організму отражает изменения, которые имеют место при наличии опухоли. Спектрофотометрическое определение NO<sub>2</sub><sup>-</sup> и L-аргинина – простой доступный клинический тест, который является ценным для мониторинга лечения опухолей, особенно с помощью L-аргинина, NO-донаторов и NOS-ингибиторов.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** оксид азота, рак желудка, нитрит-аніон, размер опухоли.

## CHANGES IN NO<sub>2</sub><sup>-</sup> LEVEL IN BIOLOGICAL FLUIDS AT GASTRIC CANCER

**O.Ya. Sklyarov, N.V. Fartushok, I.P. Fedorovych, Yu.M. Fedevych, O.M. Kolinkovsky**  
LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY

### Summary

Nitrite-anion (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) is a stable active product of gaseous NO. According to our investigation NO<sub>2</sub><sup>-</sup> level in biological fluids reflects changes, which take place in human organism with tumor. Spectrophotometrical NO<sub>2</sub><sup>-</sup> and L-arginine determination are simple and accessible clinical tests, which are valuable for monitoring during the treatment of tumors especially with L-arginine, NO-donors and NOS inhibitors.

**KEY WORDS:** nitric oxide, gastric cancer, nitrite-anion, tumor size.

**Адреса для листування:** О.Я. Складаров, Львівський національний медичний університет ім. Д.Галицького, вул. Пекарська, 69, Львів, 79010, Україна.

## КОРЕЛЯЦІЯ МІЖ СТАНОМ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ТА РУХЛИВІСТЮ СПЕРМАТОЗОЇДІВ ПРИ ЕКСКРЕТОРНО-ТОКСИЧНІЙ ФОРМІ ЧОЛОВІЧОЇ НЕПЛІДНОСТІ

**Д.З. Воробець**

*ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО*

*Встановлено, що лікування хворих із екскреторно-токсичною формою неплідності з використанням антиоксидантів (вітамін Е+вітамін С) на фоні антибактеріальної терапії призводить до нормалізації показників ПОЛ та активності глутатіонпероксидази сперматозоїдів і збільшення кількості їх рухливих форм.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** сперматозоїди, пероксидація ліпідів, глутатіонпероксидаза, антиоксиданти.

**ВСТУП.** Патологічні процеси, які відбуваються у сім'яниках і придаткових залозах, змінюють структуру і форму сперматозоїдів, що знижує їх рухливість і запліднювальну здатність [2, 7, 9]. Загальноприйняті методи діагностики неплідності не завжди вказують на причину зниження життєздатності й біологічної повноцінності сперматозоїдів, не розкривають механізму змін, а також недостатньо точно і повно його відображають [4, 17].

У зв'язку з цим відомо, що пероксидна оксидация ліпідів – універсальний механізм ушкодження клітинних мембран за різних патологіях [8, 11]. У знешкодженні вторинних продуктів пероксидації та інших окиснених речовин головну роль відіграє глутатіонова антипероксидантна система як найбільш потужна [9, 11, 13].

Завдяки каталітичній активності глутатіонпероксидази в клітинах відбувається відновлення  $H_2O_2$  та гідропероксидів органічних молекул до відповідних гідроксисполук [8, 13]. До складу цієї системи також входять глутатіонредуктаза та глутатіонтрансфераза [11, 14].

З огляду на важливу роль біологічної повноцінності сперматозоїдів у репродукції людини метою наших досліджень було вивчення стану ПОЛ та активності глутатіонової антиоксидантної системи сперматозоїдів чоловіків при екскреторно-токсичній формі неплідності й спроби їх корекції за допомогою антиоксидантної терапії.

© Д.З. Воробець, 2004.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Об'єктом досліджень були 3 групи чоловіків віком 20-47 років.

Група 1 (n=20) – контрольна – складалась з чоловіків, котрі звернулись у медичні установи зі скаргами, не пов'язаними з непліддям або інфекційними захворюваннями сечостатевої системи. Усім проведено аналіз спермограми та виконано біохімічні дослідження, що характеризують окисні процеси у спермі та стан глутатіонової антиоксидантної системи сперматозоїдів.

Група 2 (n=53) – пацієнти з екскреторно-токсичною формою неплідності, яка супроводжувалась патоспермією, з анамнестичними даними про перенесені або рецидивні урогенітальні інфекції. Залежно від проведеного лікування групу поділено на основні підгрупи:

Група 2.1 (n=26) – пацієнтам призначали базисне лікування, що включало антибактеріальну протизапальну (етіотропну, патогенетичну) та імунокоригувальну терапію (для підвищення неспецифічної резистентності організму).

Група 2.2 (n=27) – пацієнтам призначали базисне лікування + препарати з антиоксидантними властивостями (вітамін Е – по 600 мг/день, вітамін С по 500 мг/день, цинку сульфат – по 250 мг/день). Ці препарати вони приймали перорально протягом 3 місяців [15, 16, 18, 20].

Для оцінки морфологічних характеристик сперматозоїдів використовували критерії ВООЗ [21]. Підрахунок кількості рухливих,



нормальних чи патологічних форм сперматозоїдів проводили за допомогою світлового мікроскопа під імерсією.

Для розкриття латентної глутатіонпероксидазної активності до суспензії сперматозоїдів додавали 0,2 % сапоніну [5]. Вміст білка визначали за методом [19]. Визначення глутатіонпероксидазної активності проводили на основі зниження концентрації відновленого глутатіону в реакції з третбутилгідропероксидом [3]. Дану активність виражали в мкмольх GSH $\cdot$ (хв $\cdot$ мг білка) $^{-1}\cdot$ хв. Оцінку стану ПОЛ проводили за визначенням концентрації одного з кінцевих метаболітів – малонового діальдегіду (МДА) [6].

Цифрові дані результатів досліджень аналізували методом варіаційної статистики з використанням пакета програм Microsoft Excel для персонального комп'ютера типу Pentium. Розраховували середнє арифметичне (M), стандартну похибку (m), середньоквадратичне відхилення ( $\sigma$ ), коефіцієнт варіації ( $C_v$ ) і достовірність різниці даних (P).

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Показники, які характеризують функціональний стан сперматозоїдів і сперми, значно відрізнялись у групах 1 і 2 (відповідно, нормозооспермія та патоспермія внаслідок запальних уражень сечостатевої системи).

Концентрація сперматозоїдів при нормозооспермії (група 1) становила (63 $\pm$ 12,5) загальна кількість в еякуляті – (145 $\pm$ 58,0) млн/мл. При патоспермії (група 2) – (28 $\pm$ 6,2) млн/мл, загальна кількість в еякуляті – (50 $\pm$ 14,1) млн/мл. Хоча концентрація сперматозоїдів є важливою характеристикою сперми, однак її запліднювальна здатність більшою мірою залежить від концентрації та загальної кількості рухливих сперматозоїдів з нормальною будовою, тобто тих, які здатні брати участь у спермо-ооцитарній реакції [12]. Так, у нормі рухливість сперматозоїдів складала (62 $\pm$ 5,8) %, а при патоспермії – (37 $\pm$ 12,5) %. Кількість патологічних форм у нормі становила (28 $\pm$ 4,0) %, а при патоспермії (46 $\pm$ 6,0) %.

Можна попередньо стверджувати, що застосування препаратів з антиоксидантними властивостями хворими з патоспермією внаслідок хронічних урогенітальних інфекцій переважно впливає на покращання рухливості та морфології сперматозоїдів.

Відомо, що рухливість сперматозоїдів та їх запліднювальна здатність тісно пов'язані з рівнем пероксидного окиснення ліпідів і станом антиоксидантної системи [9]. Враховуючи те, що Ca $^{2+}$  регулює рухливість сперматозоїдів, їх акросомну реакцію [10], а також опосеред-

ковано впливає на стан ПОЛ [1], досліджували залежність ПОЛ від концентрації Ca $^{2+}$ . Згідно з результатами досліджень, вміст МДА зростав від (113,4 $\pm$ 9,3) нмоль/мг білка в контрольних пробах до 182,6 $\pm$ 16,1 нмоль/мг білка за наявності 0,5 мМ Ca $^{2+}$ .

При екскреторно-токсичній формі неплідності та супровідній патоспермії інтенсивність ПОЛ була вищою при 0,5 мМ Ca $^{2+}$  і становила (235,6 $\pm$ 20,1) нмоль/мг білка. Лікування хворих протягом трьох місяців з призначенням антиоксидантної терапії призводило до зменшення вмісту МДА практично до контрольного рівня. При цьому встановлено, що інгібування процесів ПОЛ при антиоксидантній терапії зворотно корелювало зі зростанням кількості рухливих сперматозоїдів ( $r=-0,78$ ) та прямо із зменшенням кількості патологічних форм ( $r=0,66$ ) при  $P<0,01$ ;  $n=53$ .

Глутатіонпероксидазна активність лінійно зростала зі збільшенням концентрації Ca $^{2+}$  до 0,01 мМ і сягала (6,8 $\pm$ 0,7) мкмоль GSH/мг білка за 1 хв. Вищі концентрації Ca $^{2+}$  (0,5 мМ) зумовлювали зниження ГП-активності до (2,2 $\pm$ 0,2) мкмоль GSH/мг білка за 1 хв. При патоспермії чутливість ферменту до Ca $^{2+}$  його загальна активність зменшувалась. Отже, катіони Ca $^{2+}$  здатні регулювати процес ПОЛ та функціонування системи знешкодження наслідків його дії, проявляючи не тільки стимулювальний вплив на глутатіонову антиоксидантну систему за низьких концентрацій (0,01 мМ...0,1 мМ), а й інгібуючий при вищих концентраціях Ca $^{2+}$ .

Лікування хворих при олігоастенотератозооспермії, викликаній екскреторно-токсичною формою неплідності, протягом трьох місяців з призначенням антиоксидантної терапії (вітамін Е – по 600 мг/день, вітамін С – по 500 мг/день, цинку сульфат – по 250 мг/день), окрім базисної (антибактеріальної та імунотропної), порівняно з лише базисною

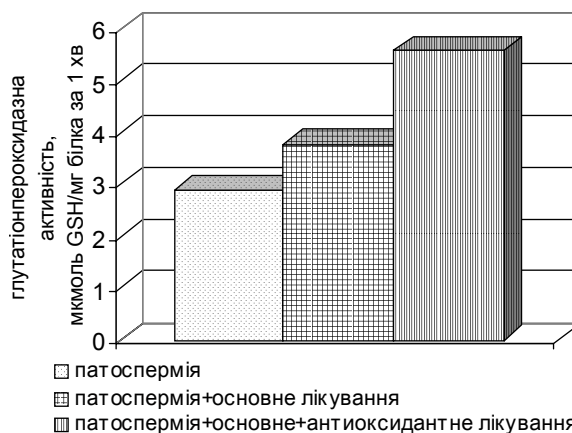


Рис. 1. Вплив лікування на глутатіонпероксидазну активність сперматозоїдів.

терапією, призводило до зростання глутатіонпероксидазної активності з  $(3,8 \pm 0,6)$  до  $(5,6 \pm 0,7)$  мкмоль GSH/мг білка за 1 хв. (рис. 1).

Ці дані щодо зростання глутатіонпероксидазної активності прямо корелюють зі збільшенням кількості рухливих сперматозоїдів ( $r=0,76$ ) та зворотно – зі зменшенням кількості патологічних форм ( $r=-0,52$ ) при  $P<0,01$ ;  $n=53$ ).

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Воробець З.Д., Підковка Н.О. Активність  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФази та ферментів глутатіонової антиоксидантної системи лімфоцитів під впливом  $\text{Ca}^{2+}$  // Укр. біохім. журн. – 2002. – **74**, № 4а. – С. 32.
2. Каган С.А., Машанский В.Ф., Тиктинский О.А. Новые данные об ультраструктуре сперматозоидов при некоторых формах патоспермии // Урология и нефрология. – 1987. – № 1. – С. 51-53.
3. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело. – 1986. – № 12. – С. 724-726.
4. Неймарк А.И., Алиев Р.Т. Значение исследования энзимов плазмы в патогенезе относительного мужского бесплодия // Урология. – 2000. – № 3. – С. 34-37.
5. Підковка Н.О., Воробець З.Д. Регуляторна роль іонів кальцію у функціонуванні глутатіонової антиоксидантної системи лімфоцитів крові // Біологія тварин. – 2002. – **4**, № 1-2. – С. 115-120.
6. Тимирбулатов С.А., Селезнев Е.И. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидосодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лаб. дело. – 1988. – № 4. – С. 209-211.
7. Aitken R.J., Clarkson J.S. Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa // J. Reprod. Fertil. – 1987. – **81**. – P. 459-469.
8. Alvarez J.G., Storey B.T. Role of glutathione peroxidase in protecting mammalian spermatozoa from loss of motility caused by spontaneous lipid peroxidation // Gamete Res. – 1989. – **23**, №1. – P. 77-90.
9. Baumber J., Ball B.A., Gravance C.G. et al. The effect of reactive oxygen species on equine sperm motility, viability, acrosomal integrity, mitochondrial membrane potential, and membrane lipid peroxidation // J. Androl. – 2000. – **21**, № 6. – P. 895-902.
10. Benoff S. Voltage-dependent calcium channels in mammalian spermatozoa // Front. in Biosci. – 1998. – **3**. – P. 1220-1240.
11. Dendeker S.P., Nadkarni G.D., Kulkarni V.S., Punekar S. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in male infertility // J. Postgrad. Med. – 2002. – **48**, № 3. – P. 186-189.
12. De Lamirande E., Eiley D., Gagnon C. Inverse relationship between the induction of human sperm capacitation and spontaneous acrosome reaction by various biological fluids and the superoxide scavenging capacity of these fluids // Int. J. Androl. – 1993. – **16**, № 4. – P. 258-266.
13. Doroshov J.H. Glutathione peroxidase and oxidative stress // Toxicol. Lett. – 1995. – **82/83**. – P. 395-398.
14. Hemachand T., Shaha C. Functional role of sperm surface glutathione S-transferases and extracellular glutathione in the haploid spermatozoa under oxidative stress // FEBS Lett. – 2003. – **538**, №1-3. – P. 14-18.
15. Keskes-Ammar L., Feki-Chakroun N., Rebai T. et al. Sperm oxidative stress and the effect of an oral vitamin E and selenium supplement on semen quality in infertile men // Arch. Androl. – 2003. – **49**, № 2. – P. 83-94.
16. Khanna S., Roy S., Ryu H. et al. Molecular basis of vitamin E action: tocotrienol modulates lipoxygenase, a key mediator of glutamate-induced neurodegeneration // J. Biol. Chem. – 2003. – **278**, № 44. – P. 43508-43515.
17. Lejonhufvud K.G. Aspects of the regulation of human sperm motility // Human Reproduc. – 1997. – **12**, № 11. – P. 2414-2417.
18. Long J.A., Kramer M. Effect of vitamin E on lipid peroxidation and fertility after artificial insemination with liquid-stored turkey semen // Poult. Sci. – 2003. – **278**, № 44. – P. 1802-1807.
19. Lowry Protein measure with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. – 1951. – **193**, № 1. – P. 265-279.
20. Suzuki M., Kurabayashi T., Yamamoto Y. et al. Effects of antioxidant treatment in oligozoospermic and asthenozoospermic men // J. Reprod. Med. – 2003. – **48**, № 9. – P. 707-712.
21. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction. – 3rd and 4th ed. – Cambridge, England: Cambridge University Press, 1992 and 1999.

#### КОРЕЛЯЦІЯ МЕЖДУ СОСТОЯНИЯМ

# АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМОЙ И ПОДВИЖНОСТЬЮ СПЕРМАТОЗОИДОВ ПРИ ЭКСКРЕТОРНО-ТОКСИЧЕСКОЙ ФОРМЕ БЕСПЛОДИЯ МУЖЧИН

Д.З. Воробец

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

## Резюме

Установлено, что лечение больных с экскреторно-токсической формой бесплодия с использованием антиоксидантов (витамин Е+витамин С) на фоне антибактериальной терапии приводит к нормализации показателей ПОЛ и активности глутатионпероксидазы сперматозоидов, и увеличению количества их подвижных форм.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **сперматозоиды, пероксидация липидов, глутатионпероксидаза, антиоксиданты.**

## CORRELATION BETWEEN STATUS OF ANTIOXIDATIVE SYSTEM AND SPERMATOZOA MOTILITY AT MEN WITH EXCRETORY-TOXIC FROM OF INFERTILITY

D.Z. Vorobets

LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY

## Summary

*It was shown that the treatment of patients with excretory-toxic form of infertility with antioxidants (vitamin E+vitamin C) against a background of infertility with antibacterial therapy causes normalization of lipoperoxidation indices and glutathione antilipoperoxidative system activity in spermatozoa as well as increasing of active motile cells amount.*

KEY WORDS: **spermatozoa, lipid peroxidation, glutathione peroxidase, antioxidants.**

Адреса для листування: Д.З. Воробець, Львівський національний медичний університет ім. Д.Галицького, вул. Пекарська, 69, Львів, 79010, Україна.

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

## АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА ТА АКТИВНІСТЬ ОКРЕМИХ ЕНЗИМІВ ОБМІНУ ВУГЛЕВОДІВ У ЛІКВІДАТОРІВ АВАРІЇ НА ЧАЕС

Л.С. Старикович<sup>1</sup>, Я.П. Чайка<sup>1</sup>, М.О. Кондратюк<sup>3</sup>, З.О. Надюк<sup>2</sup>, О.В. Трикуленко<sup>1</sup>,  
Н.І. Климишин<sup>1</sup>, Л.О. Дацюк<sup>1</sup>, Г.М. Паук<sup>1</sup>, У.В. Старанко<sup>1</sup>, Р.С. Стойка<sup>1</sup>

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ІВАНА ФРАНКА<sup>1</sup>  
ЛЬВІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ОБЛАСНИЙ СПЕЦІАЛІЗОВАНИЙ ДИСПАНСЕР  
РАДІАЦІЙНОГО ЗАХИСТУ НАСЕЛЕННЯ<sup>2</sup>  
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО<sup>3</sup>

*Досліджено активність ензимів антиоксидантного захисту (супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази), а також вміст дієнових кон'югат та молекул середньої маси в плазмі крові ліквідаторів аварії на ЧАЕС за умов автоімунного тиреоїдиту та інших патологій. Отримані дані свідчать про підвищення активності окремих ензимів антиоксидантного захисту при автоімунному процесі та зростання вмісту продуктів деградації макромолекул.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** автоімунний тиреоїдит, ензими антиоксидантної системи, ензими обміну вуглеводів, продукти перекисного окиснення ліпідів, молекули середньої маси.

ВСТУП. Раніше було встановлено, що за хронічного впливу малих доз радіації або у випадку доз, що призводять до розвитку променевої хвороби I та II ступенів, після певного періоду стабілізації (протягом місяця), в подальшому спостерігається зміна рівнів коливання низки біохімічних та імунологічних показників залежно від часу після опромінення (в бік їх зростання або зниження). Очевидно, адаптаційні системи організму не забезпечують повного повернення до рівня нормальних циркадних коливань, що зумовлює їх вихід на інший рівень, який відповідає силі впливу стресорного чинника. Під час ліквідації аварії на ЧАЕС серед факторів, впливу яких зазнавали ліквідатори, інкорпорація радіоактивного йоду тканинами організму була досить значною і могла спричинити акумуляцію його у щитоподібній залозі (ЩЗ) та, як наслідок, розвиток патології цього органа. Тому серед учасників ліквідації аварії спостерігається зростання рівня захворюваності на хронічний автоімунний тиреоїдит (АТ) (на 18,02 % у жінок і 8,29 % у чоловіків). Подібні тенденції до підвищення рівня захворюваності виявлено і серед насе-

© Л.С. Старикович, Я.П. Чайка, М.О. Кондратюк, З.О. Надюк, О.В. Трикуленко, Н.І. Климишин, Л.О. Дацюк, Г.М. Паук, У.В. Старанко, Р.С. Стойка, 2004.

лення територій, забруднених радіонуклідами внаслідок катастрофи [2, 4]. Розвиток АТ в основному пов'язують зі зниженою ефективністю супресорних механізмів, порушенням імунологічного нагляду, що проявляється в дефіциті антигенспецифічних супресорних Т-клітин. Одним із критеріїв оцінки рівня метаболічних процесів як за умов патології ЩЗ, так і при низькоінтенсивному випромінюванні, може бути ефективність функціонування системи антиоксидантного захисту (АОЗ), а також тісно спряжених з нею ензимів обміну вуглеводів. Оскільки безпосереднє дослідження клітин ЩЗ є травматичним (біопсія, трепанобіопсія, операційне втручання), використовують опосередковані методи – дослідження клітин периферичної крові та плазми, які також можуть дати уявлення про розвиток патологічних процесів.

Метою роботи було дослідити активність супероксиддисмутази (СОД, КФ 1.5.1.1), каталази (КФ 1.11.1.6), глутатіонпероксидази (ГПО, КФ 1.11.1.9), глутатіонредуктази (ГР, КФ 1.6.4.2), глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ, КФ 1.1.1.49), лактатдегідрогенази (ЛДГ, КФ 1.1.1.27) у цільній крові, плазмі та лізатах еритроцитів ліквідаторів, хворих на АТ та інші захворювання. Активність СОД виражали у % інгібування, % на 1 мг білка, а також у МО на

1 мг білка (U/[б]), активність інших ензимів виражали в мкмольах коферменту на 1 мг білка. Крім того, було вивчено інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів за вмістом дієнових кон'югат (ДК) (нмоль на 1 мл плазми або лізату еритроцитів) та ендогенну інтоксикацію організму за вмістом молекул середньої маси (МСМ) (мг на 1 мл плазми) [5].

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження проведено з використанням крові 27-ми осіб (9 – контрольна група, 11 – пацієнти з АТ, 7 – з іншими захворюваннями – вегетативно-судинна дистонія, гіпертонічна хвороба, виразкова хвороба шлунку, остеохондроз, хронічний гастрит, алергія). Діагноз було встановлено та підтверджено у Львівському державному обласному спеціалізованому диспансері радіаційного захисту населення на підставі клінічного обстеження. Кров забирали з ліктьової вени шприцом, що містив розчин гепарину – 20 ОД на 1 мл крові. Активність ензимів визначали за раніше описаними методиками [6]. Концентрацію білка визначали методом Лоурі [8]. Результати досліджень обробляли статистично, використовуючи t-критерій Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Дослідження ензимів АОЗ показало, що активність СОД, що перетворює супероксид-аніон на пероксиду водню, мало відрізняється в цільній крові та відмитих еритроцитах [6]. У даній серії дослідів коефіцієнт співвідношення цих активностей становив 1,07. У ліквідаторів, яким діагностовано АТ, виявлено достовірне зростання активності ензиму (в 3,6 раза) лише в цільній крові (табл. 1). Водночас відмічено, що співвідношення активності СОД у цільній крові до активності еритроцитарної СОД суттєво зростає (2,37), а у ліквідаторів із відначеними раніше захворюваннями, відповідно, значення  $K=1,76$  (табл. 1). Як було зазначено у попередніх дослідженнях, висока активність СОД у цільній крові пов'язана з клітинами лейкокону, активація яких відбувається за патологічних станів, у тому числі за АТ.

Отже, активність СОД за АТ у ліквідаторів зростає як у цільній крові, очевидно, за рахунок клітин лейкокону, так і почасти в еритроцитах, однак це зростання не є пропорційним, про що свідчить збільшення величини  $K$ . У ліквідаторів з іншими патологіями тенденція до підвищення активності СОД виявлена лише в цільній крові.

Активність каталази у цільній крові та еритроцитах ліквідаторів виявилась зменшеною як за АТ, так і при інших захворюваннях (рис. 1). Таке зниження активності може бути пов'язане з інактивацією каталази як внаслідок посиленого розщеплення цього ензиму специфічною протеїназою, так і інгібування значною кількістю  $H_2O_2$ , генерованого СОД або шляхом його неензиматичного утворення. Співвідношення активності каталази за АТ у цільній крові та еритроцитах, як і в попередніх дослідженнях, становило 1,22-1,23, хоча абсолютні величини активності були вдвічі меншими. Ймовірно, активність даного ензиму в ліквідаторів достовірно знижується не лише за рахунок деградації, інгібування, а можливо й, через репресію його найбільш активних ізоформ. Крім каталази, у знешкодженні радіоіндукованих активних форм кисню беруть участь й інші ензими АОЗ, у тому числі ГПО та ГР. Подібно до каталази, активність ГПО достовірно знижувалась як у хворих на АТ, так і в ліквідаторів з іншими типами захворювання (відповідно, майже у 2 і 4 рази), тоді як активність ГР не відрізнялась від контрольних значень (рис. 1). Таким чином, хоча зростання рівня первинних продуктів ПОЛ є незначним, активність каталази та ГПО зазнає суттєвих змін, що може опосередковано свідчити про накопичення пероксидів в організмі ліквідаторів у віддалені терміни після дії стресорного чинника, оскільки ензими, що регенерують глутатіон за рахунок використання NADPH (Г-6-ФДГ) та NADH (ЛДГ еритроцитів), мало змінюють свою активність (рис. 1).

Одним із головних показників, що свідчить про рівень активізації і переважання окисних процесів в організмі, вважається вміст ДК [7].

Таблиця 1 – Активність СОД у цільній крові та лізатах еритроцитів людини в нормі та за патологічних станів (n=7)

Об'єкт	Цільна кров			Еритроцити		K
	% інгібув.	%/[б]·10 <sup>-2</sup>	U/[б]	%/[б]·10 <sup>-2</sup>	U/[б]	
Здорові донори	22,56±3,65	8,97±1,56	1,48±0,35	9,34±2,58	1,29±0,34	1,07
Ліквідатори з АТ	39,05±5,63*	23,35±3,32*	5,37±1,41*	15,47±3,03	2,27±0,41*	2,37
Ліквідатори з іншими захворюваннями	29,9±4,81	15,54±2,51*	2,92±0,76	14,46±4,79	1,66±0,30	1,76

Примітки: 1. Зміни щодо дослідів і контролю достовірні;  $p \leq 0,05$ .

2. K – коефіцієнт співвідношення активності СОД у цільній крові та еритроцитах, вирахований за  $U/[б]$  ([б] – концентрація білка в 1 мг).



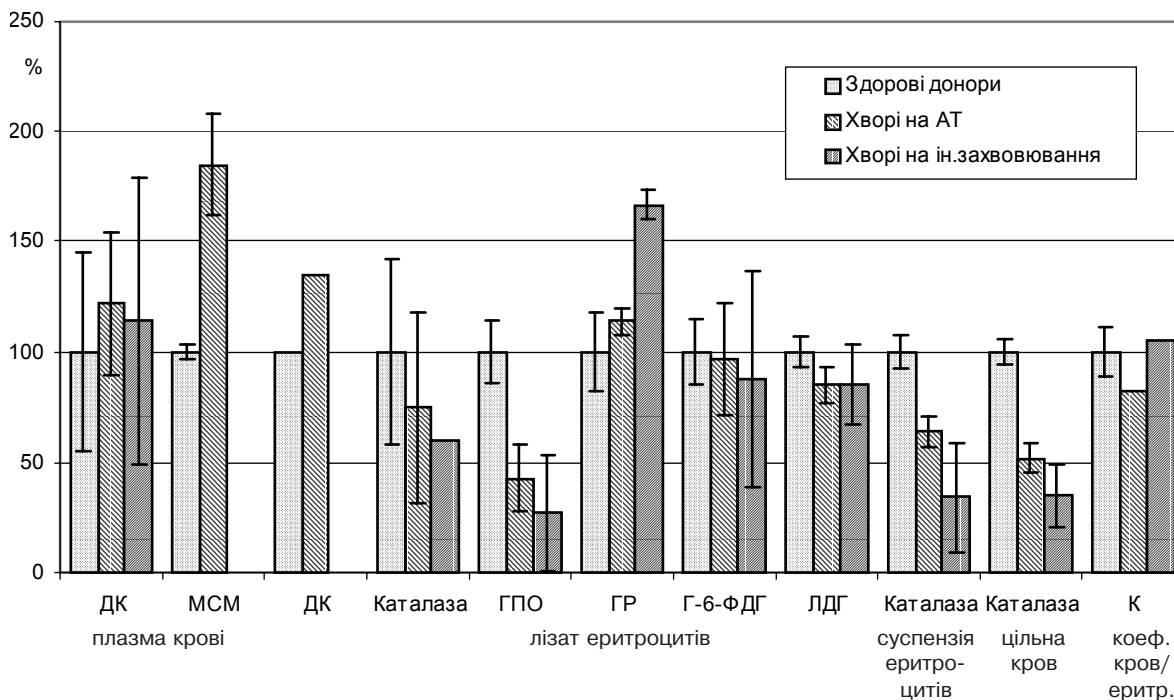


Рис. 1. Вміст ДК, МСМ та активність каталази, ГПО, ГР, Г-6-ФДГ, ЛДГ у плазмі, лізатах еритроцитів, відмитих еритроцитах, цільній крові та коефіцієнт співвідношення (К) активності каталази в цільній крові до активності в еритроцитах.

Ці сполуки утворюються в процесі окиснення жирних кислот. У ході експериментів нами було виявлено тенденцію до зростання вмісту ДК (рис. 1) як у плазмі крові хворих на АТ, так і в лізатах еритроцитів, причому це зростання в лізатах є більшим, що може свідчити про залучення в автоімунні процеси клітин периферичної крові та посилення в них процесів вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів. Посилене функціонування імунної системи можна виявити шляхом визначення рівня МСМ. До них відносять речовини плазми з молекулярною масою від 1 до 5 кДа, які мають широкий спектр біологічної дії. Їх кількість зростає при різноманітних патологічних станах організму [3], в тому числі за автоімунних процесів. Нами встановлено, що рівень МСМ

за АТ достовірно підвищується (рис.1), що можна пов'язати з посиленням процесів розпаду білків, у тому числі ензимів та імуноглобулінів [1].

ВИСНОВКИ У ліквідаторів аварії на ЧАЕС з АТ виявлено достовірно підвищення активності СОД у цільній крові, а співвідношення між активністю СОД та активністю каталази може бути тестовою ознакою, що відрізняє дане захворювання від інших патологій. Встановлено вірогідне зростання кількості МСМ за автоімунних процесів та зниження активності каталази та ГПО у ліквідаторів обох груп, але при цьому не визначено відхилень у функціонуванні ключових ензимів вуглеводного обміну.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Иванова В.А. Иммуномодулирующие пептиды: роль пептидных фрагментов эндогенных и экзогенных белков в модуляции иммунных процессов // Бюлл. эксперим. биол. мед. – 1994. – № 3. – С. 361-367.
2. Каминский А.В. Хронический аутоиммунный тиреоидит (этиология, патогенез, радиационные аспекты) // Укр. мед. часопис. – 1999. – № 1(9). – I/II. – С. 15-22.
3. Карелин А.А., Филипова М.М., Лукин О.Н. и др. Протеолитическая деградация гемоглобина в эритроцитах приводит к образованию биологически активных пептидов // Биоорг. химия. – 1998. – 24, № 4. – С. 271-281.
4. Лютих В.П., Долгих А.П. Нестохастические эффекты длительного хронического облучения человека ионизирующим излучением в малых дозах // Мед. радиология и радиац. безопасность. – 1997. –

№ 42 (3). – С. 51-58.

5. Николайчик В.В., Манн В.М., Кирковский В.В., Мазур Л.И., Лобачева Г.А. и др. Способ определения "средних молекул" // Лаб. дело. – 1991. – № 10. – С. 13-18.

6. Старикович Л.С., Кондратюк М.О. та інші. Дослідження активності ензимів антиоксидантного захисту та обміну вуглеводів за умов аутоімунного тиреоїдиту та дифузного токсичного зоба // Вісник

Львів. нац. ун-ту. Серія: Біологія. – 2004. – № 37. – С. 27-32.

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

8. Lowri O.H., Rosenbraugh M.J., Pori A.L. Protein measurement with the Folin phenol reagent // Biol. Chem. – 1971. – **195**, № 6. – P. 265-267.

## АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА И АКТИВНОСТЬ ОТДЕЛЬНЫХ ЭНЗИМОВ ОБМЕНА УГЛЕВОДОВ У ЛИКВИДАТОРОВ АВАРИИ НА ЧАЭС

**Л.С. Старикович<sup>1</sup>, Я.П. Чайка<sup>1</sup>, М.А. Кондратюк<sup>3</sup>, З.А. Надюк<sup>2</sup>, А.В. Трикуленко<sup>1</sup>,  
Н.И. Климишин<sup>1</sup>, Л.А. Дацюк<sup>1</sup>, Г.М. Паук<sup>1</sup>, У.В. Старанко<sup>1</sup>, Р.С. Стойка<sup>1</sup>**

**ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ИВАНА ФРАНКО<sup>1</sup>  
ЛЬВОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ОБЛАСТНОЙ СПЕЦИАЛИЗОВАННЫЙ ДИСПАНСЕР  
РАДИАЦИОННОЙ ЗАЩИТЫ НАСЕЛЕНИЯ<sup>2</sup>  
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО<sup>3</sup>**

### Резюме

Исследована активность энзимов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы), содержание диеновых конъюгатов и молекул средней массы в плазме крови ликвидаторов аварии на ЧАЭС в условиях аутоиммунного тиреоидита и других патологий. Полученные данные свидетельствуют о повышении активности отдельных энзимов антиоксидантной защиты при аутоиммунном процессе и о возрастании содержания продуктов деградации макромолекул.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** аутоиммунный тиреоидит, энзимы антиоксидантной системы, энзимы обмена углеводов, продукты перекисного окисления липидов, молекулы средней массы.

## ANTIOXIDANT SYSTEM AND ACTIVITY OF SPECIFIC ENZYMES OF CARBOHYDRATE METABOLISM IN LIQUIDATORS OF CHORNOBYL ACCIDENT

**L.S. Starykovych<sup>1</sup>, Ya.P. Chaika<sup>1</sup>, M.O. Kondratyuk<sup>3</sup>, Z.A. Nadyuk<sup>2</sup>, O.V. Trykulenko<sup>1</sup>,  
N.I. Klymyshyn<sup>1</sup>, L.O. Datsyuk<sup>1</sup>, G.M. Pauk<sup>1</sup>, U.V. Staranko<sup>1</sup>, R.S. Stoika<sup>1</sup>**

**LVIV NATIONAL UNIVERSITY BY IVAN FRANKO<sup>1</sup>  
LVIV STATE REGIONAL SPECIALIZED DISPENSARY FOR RADIATION PROTECTION OF POPULATION<sup>2</sup>  
LVIV STATE MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY<sup>3</sup>**

### Summary

The activity of enzymes of antioxidant defence (AOD) (superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase, glutathione peroxidase) and content of diene conjugates and medium-mass molecules was studied in blood plasma at autoimmune thyroiditis and other diseases in liquidators of Chornobyl accident. The obtained results testify to increase of activity of specific enzymes of antioxidant defence at the autoimmune process and increase in the content of degradation products of macromolecules.

**KEY WORDS:** autoimmune thyroiditis, enzymes of antioxidant system, lipid peroxidation products, enzymes of carbohydrate metabolism, medium-mass molecules.

**Адреса для листування:** Л.С. Старикович, Львівський національний університет ім. Івана Франка, вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна.

## ІНТЕГРАЛЬНИЙ ПОКАЗНИК АНТИОКСИДАНТНО-ПРООКСИДАНТНОГО СТАНУ ОРГАНІЗМУ ЯК ІНСТРУМЕНТ БІОМОЛЕКУЛЯРНОГО МОНІТОРИНГУ

О.Б. Столяр, В.В. Грубінко, Н.Г. Зінковська, А.Є. Мудра, О.В. Міщук  
 ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
 ІМ. ВОЛОДИМИРА ГНАТЮКА

*На підставі власних експериментальних даних обчислено інтегральний показник антиоксидантно-прооксидантного статусу – коефіцієнт антиоксидантного стану (КАС) – в тканинах прісноводних тварин, які перебували у забруднених водоймах. Оптимальний склад показників для узагальнення включає активність супероксиддисмутази та каталази, вміст відновленого глутатіону та показники окисної деструкції ліпідів і білків. КАС адекватно відображає характер відповіді організму на токсичну дію залежно від природи та концентрації токсиканта і виду організму.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** прісноводні тварини, важкі метали, комбіноване забруднення, антиоксидантний захист.

ВСТУП. Останнім часом визнається необхідність переоцінки підходів до визначення токсичності води для гідробіонтів [1]. Безперечним є той факт, що абсолютна концентрація речовини як у воді, так і в окремих тканинах організму не може бути критерієм її токсичності [11]. Тому встановлювати характер впливу токсикантів потрібно на підставі аналізу стану чутливих і селективних молекулярних тест-систем організмів. За останні роки в ряді робіт показано плідне застосування інтегральних показників, які являють собою алгебраїчну суму змін певних показників антиоксидантно-прооксидантного стану, для оцінки функціонального стану організму [2, 5]. Заслуговеє на увагу запропонований С.С. Руденко показник розбалансованості антипероксидантної ферментної системи [5], проте він не враховує оцінки ефективності цієї системи за утворенням продуктів окисної деструкції біополімерів. Спроба оцінити загальний стан системи антиоксидантного захисту коропа за інтегральним показником, що враховує співвідношення антиоксидантних і прооксидантних факторів, була зроблена Ю.В. Леусом [4], однак у його роботі досліджувалась дія лише однієї концентрації металу-токсиканта та враховувались прооксидантні зміни тільки для ліпідів.

На основі вищенаведених міркувань, з метою оцінити концентраційно-залежну та видоспецифічну відповідь гідробіонтів на забруд-

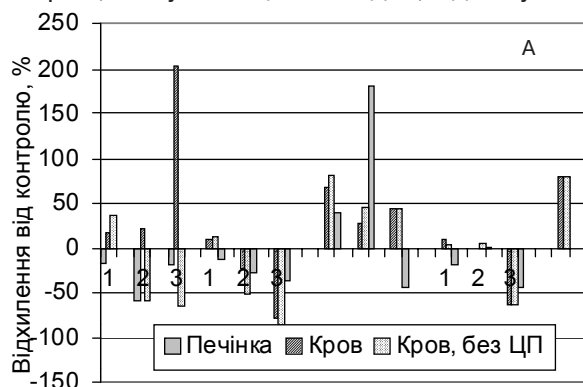
нення середовища іонами важких металів, ми застосували інтегральний показник, розрахований за аналогічним до повідомленого [4] принципом, але ввели до його складу більшу кількість даних, зокрема вміст окисних модифікацій білків і вміст неферментного антиоксиданта – небілкових тіолів. Це дозволило використати його для оцінки не лише пероксидації ліпідів, а й загального стану ефективності відповіді антистресових факторів організму.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обчислення було виконано на основі експериментальних результатів, одержаних нами при вивченні дії іонів металів на коропа лускатого (*Syrphius carpio* L.) та двостулкового молюска беззубку лебедину (*Anodonta cygnea*) [6-10, 12]. Три концентрації іонів металів, досліджені за дією на коропа та умовно позначені як "мала", "середня" та "велика" (МК, СК, ВК), становили, відповідно, для  $\text{Cu}^{2+}$  0,01, 0,2, 0,5 мг/л;  $\text{Zn}^{2+}$  – 0,1, 2,0 або 5,0 мг/л;  $\text{Mn}^{2+}$  – 0,13, 2,6 або 6,0 мг/л;  $\text{Pb}^{2+}$  – 0,01, 0,2 або 0,5 мг/л. За дії на беззубку та обидва види у суміші досліджували МК металів. МК кожного металу була близькою або нижчою, ніж його середній вміст у прісних водоймах України. ВК не призводили до летального наслідку протягом 14 діб інкубації.

Коефіцієнт антиоксидантного стану (КАС) тканин обчислювали як відношення сум показників стану антиоксидантних (А) і прооксидантних (П) факторів:  $\text{КАС} = \Sigma\text{А}/\Sigma\text{П}$ . Кожний по-

казник 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 дослідної і контрольної серій. До "А" відносили такі показники, як активність супероксиддисмутази (СОД), каталази, вміст відновленого глутатіону (GSH) в тканині, до "П" – вміст продуктів окисних модифікацій білків (ОМБ) і ліпідів (ТБК-реактивних продуктів). За такої кількості даних у контролі КАС становив 1,5. Також було обчислено КАС крові коропа із врахуванням вмісту церулоплазміну (ЦП) в плазмі. У цьому випадку КАС у контролі складав 2. За відсутності даних про окисні модифікації білків (у деяких дослідних серіях) кінцевий результат для КАС у контролі становив 3. Тому, у зв'язку з відмінностями в наборі даних, які мали місце в окремих випадках, та для кращого наочного зображення масштабу змін, кінцевий результат подавали у вигляді відносного відхилення КАС від контролю.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Обчислення КАС у коропа (рис. 1) дозволило з'ясувати сумарний ефект змін стану антиоксидантно-прооксидантних факторів. Показано, що за дії МК і СК мідь та цинк спричиняють прооксидантну дію, а марганець – значну антиоксидантну активність [3]. За дії ВК більшість металів проявляє прооксидантну дію і лише марганець за станом крові є антиоксидантом. У більшості випадків типова для певного металу та концентрації тенденція дії більше виражена в крові, ніж у печінці. Очевидно, і дію суміші



зручно порівнювати з дією окремих компонентів також на підставі КАС, а не окремих показників.

Порівнювання величини КАС, обчисленої з урахуванням вмісту ЦП та без нього, показує, що цей показник, специфічно чутливий до дії міді, істотно змінює оцінку даних крові саме за дії СК і ВК даного металу, що може бути використано в діагностичних цілях, зокрема для оцінки впливу міді у суміші.

Обчислення КАС для тканин беззубки (рис. 1) дало можливість кількісно виразити потужність суперкомпенсаторної відповіді організму беззубки на дію міді та суміші, що її містить.

За показником КАС яскраво виражена значна відмінність у ступені толерантності двох видів до металів. Він добре відображає і особливості молекулярних адаптацій до перебування беззубки у забрудненій воді ставу. Не визначаючи конкретних складників води із ставу, ми за величиною КАС можемо ідентифікувати суперкомпенсаторну стадію відповіді, що свідчить про перебування організму в умовах перевищення безпечного рівня забруднювачів.

**ВИСНОВОК.** Проаналізовані нами дані дозволяють рекомендувати обчислення КАС, одержаного на основі мінімального набору п'яти показників антиоксидантно-прооксидантного стану функціонально активних тканин двох видів тварин, що відрізняються за екологічними вимогами, для використання у біомолекулярному моніторингу прісних водойм.

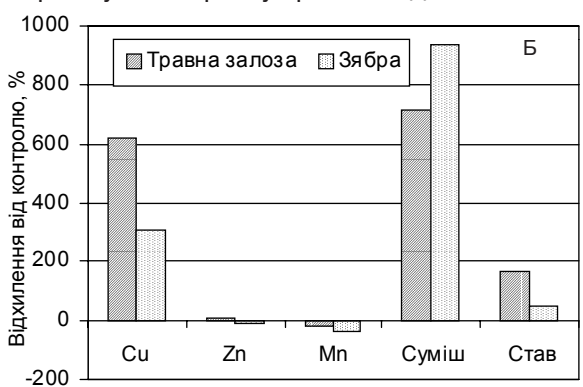


Рис. 1. КАС тканин коропа (А) та беззубки (Б) за дії на організм іонів важких металів. Для КАС крові коропа обчислення проведено з урахуванням вмісту ЦП у плазмі та без нього. А: 1 – МК, 2 – СК, 3 – ВК.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Брагинский Л.П., Линник П.Н. К методике токсикологического эксперимента с тяжелыми металлами на гидробионтах // Гидробиол. журн. – 2003. – 39, № 1. – С. 92-104.  
 2. Довженко Н.В., Бельчева Н.Н., Челомин В.П. Биохимические показатели окислительного стресса

как индикаторы антропогенного загрязнения водных экосистем // Тез. докл. Всерос. конф. с участием спец. из стран ближн. и дальн. зарубежья "Современные проблемы водной токсикологии". – Борок, 2002. – С. 37-38.  
 3. Зіньковська Н.Г., Мудра А.Є., Столяр О.Б.

Цинк (II) як антиоксидант і прооксидант за дії на організм коропа // Укр. біохім. журн. – 2002. – **74**, № 46 (додаток 2). – С. 88.

4. Леус Ю.В. Перекисне окиснення ліпідів та антиоксидантний захист у риби під впливом факторів водного середовища: Автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.17 / НАН України. Інститут гідробіології. – К., 1998. – 16 с.

5. 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.

6. Столяр О.Б. Окиснювальна модифікація білків гепатопанкреасу і плазми крові коропа за інтоксикації важкими металами // Наук. записки Терноп. педуніверситету. Серія: Біологія. – 2001. – № 2 (13). – С. 44-49.

7. Столяр О.Б., Грубинко В.В., Михайлів Р.Л., Мищук Е.В. Роль металлотіонеїнів в детоксикації іонів  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  в тканинах двусторчатого моллюска *Anodonta cygnea* при їх дії в окремих і в суміші // Гідробіол. журн. – 2004. – **40**, № 3. – С. 91-102.

8. Столяр О.Б., Зінковська Н.Г., Мудра А.Є. Антиоксидантно-прооксидантний статус тканин коропа при дії на організм сублетальної концентрації марганцю (II) // Науково-технічний бюлетень інституту біології тварин – Львів, 2001. – Вип. 1-2. – С. 263-267.

9. Столяр О.Б., Зінковська Н.Г., Мудра А.Є. та інш. Антиоксидантно-прооксидантний статус організму коропа при дії сублетальної концентрації міді (II) // Наук. записки Терноп. педуніверситету. Серія: Біологія. – 2000. – № 3 (10). – С. 72-78.

10. Столяр О.Б., Мудра А.Є., Зінковська Н.Г. та інш. Селективність металотіонеїнів печінки коропа у зв'язуванні іонів металів та антиоксидантний захист організму за дії суміші міді, цинку, марганцю і свинцю // Доп. НАН України. – 2004. – № 5. – С. 184-189.

11. Cajaraville M.P., Bebianno M.J., Blasco J. et al. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach // *Sci. Total Environ.* – 2000. – **247**. – P. 295-311.

12. Stolyar O., Mudra A. The effects of lead on the antioxidant status and lipid peroxidation in carp hepatopancreas // *Annales Universitatis Marie Curie-Skłodowska.* – 2002. – **15**, № 31. – P. 391-394.

## ИНТЕГРАЛЬНЫЙ ПОКАЗАТЕЛЬ АНТИОКСИДАНТНО-ПРООКСИДАНТНОГО СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА КАК ИНСТРУМЕНТ БИОМОЛЕКУЛЯРНОГО МОНИТОРИНГА

**О.Б. Столяр, В.В. Грубинко, Н.Г. Зинковская, А.Е. Мудрая, Е.В. Мищук**  
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ВЛАДИМИРА ГНАТЮКА

### Резюме

На основании собственных экспериментальных данных вычислен интегральный показатель антиоксидантно-прооксидантного статуса – коэффициент антиоксидантного состояния (КАС) – в тканях пресноводных животных, находящихся в условиях загрязненных водоемов. Оптимальный состав показателей для обобщения включает активность супероксиддисмутазы и каталазы, содержание восстановленного глутатиона и показатели окислительной деструкции липидов и белков. КАС адекватно отражает характер ответа организма на токсическое действие в зависимости от природы и концентрации токсиканта и вида организма.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пресноводные животные, тяжелые металлы, комбинированное загрязнение, антиоксидантная защита.

## INTEGRATIVE INDEX OF ANTIOXIDANT-PROOXIDANT STATE OF ORGANISM AS A TOOL OF BIOMOLECULAR MONITORING

**O.B. Stolyar, V.V. Grubinko, N.G. Zinkovska, A.Y. Mudra, O.V. Mischuk**  
TERNOPIL NATIONAL PEDAGOGICAL UNIVERSITY BY VOLODYMYR HNATYUK

### Summary

On the base of own experimental data the integrative index of antioxidant-prooxidant state – coefficient of antioxidant state (CAS) – in the tissues of freshwater animals under the effect of poisoning water was calculated. The optimal composition of indices for summarizing includes superoxide dismutase and catalase activity, reduced glutathione content and indicators of the lipid and protein oxidative destruction. CAS adequately reflects the character of organism response depending on toxicant nature and concentration and organism species.

KEY WORDS: freshwater animals, heavy metals, combined pollution, antioxidant defence.

Адреса для листування: О.Б. Столяр, вул. За Рудкою, 14, кв. 77, Тернопіль, 46003, Україна.



## КЛІНІЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРОЯВУ СОЛЕЧУТЛИВОЇ ТА РЕЗИСТЕНТНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ ЗАЛЕЖНО ВІД ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА АНГІОТЕНЗИНПЕРЕТВОРЮВАЛЬНОГО ФЕРМЕНТУ

Н.О. Кравченко<sup>1</sup>, А.Б. Львова<sup>2</sup>, С.В. Виноградова<sup>1</sup>, І.В. Шуть<sup>1</sup>  
ІНСТИТУТ ТЕРАПІЇ АМН УКРАЇНИ, ХАРКІВ<sup>1</sup>  
ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ<sup>2</sup>

На підставі клінічного аналізу та поліморфізму гена ангіотензинперетворювального ферменту визначено, що серед солерезистентних гіпертоніків розповсюджений DD генотип. У групі солечутливих гіпертоніків встановлено зв'язок II генотипу з ожирінням, надмірним споживанням солі. У солечутливих пацієнтів відзначено вищу активність ренін-ангіотензинової системи порівняно із солерезистентними та більш виражене порушення обміну електролітів.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** ренін-ангіотензинова система, ангіотензинперетворювальний фермент, есенціальна гіпертензія, солерезистентність, інсерція/делеція поліморфізму, електроліти.

ВСТУП. Ренін-ангіотензинова система (РАС) відіграє важливу роль у підтриманні тиску крові та балансу електролітів [3, 9]. Індивідуальні особливості у зміні тиску у відповідь на зміни у споживанні солі дозволили припустити, що ці відмінності генетично детерміновані. Ангіотензинперетворювальний фермент (АПФ) (3.4.15.1) перетворює ангіотензин I у фізіологічно активний вазоконстриктор ангіотензин II (АТII). Результати проведених досліджень відносно асоціації інсерція/делеція (I/D) поліморфізму гена АПФ у 16 інтрони з АГ мають суперечливий характер [4, 5, 6].

Мета досліджень полягала у визначенні зв'язку I/D поліморфізму гена АПФ з гемодинамічними показниками, ожирінням при артеріальній гіпертензії, чутливій та резистентній до вмісту солі в дієті.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Групу пацієнтів з есенціальною артеріальною гіпертензією (ЕАГ) склали 23 особи з АГ, чутливою до вмісту солі в дієті (СЧ), і 23 – з АГ, резистентною до солі (СР). Серед СР гіпертоніків було 16 чоловіків (69,6 %) і 7 жінок (30,4 %), середній вік складав (51,5±2,5) року, давність АГ становила (7,2±0,8) року. В групі СЧ було 11 чоловіків (47,8 %) і 12 жінок (52,2 %), середній вік – (54,7±2,6) року, давність АГ – (8,4±0,6) року.

Активність АПФ визначали спектрофотометричним методом з використанням синтетичного © Н.О. Кравченко – к.біол.н., А.Б. Львова, С.В. Виноградова, І.В. Шуть, 2004.

субстрату фурил-акрилоїл-фенілаланіл-гліцил-гліцину [1]. ДНК виділяли з крові методом екстракції фенолом/хлороформом [2]. Поліморфізм гена АПФ визначали методом полімеразної ланцюгової реакції. Використовували термостабільну полімеразу BioTag – по 0,5 од. на пробу, суміш dNTP – по 200 мкМ кожного (Fermentas, м. Вільнюс). Застосовували праймери з послідовністю нуклеотидів, яка відповідає описаним раніше [8]. Температура відпалу праймерів становила 55 °С. Ідентифікацію ампліфікатів проводили горизонтальним електрофорезом у 2 % агарозному гелі. Вміст натрію і калію у плазмі крові визначали наборами реактивів фірми "Human" (Німеччина).

Статистичну обробку проводили з використанням t-критерію Стьюдента, методом Фішера та  $\chi^2$ .

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У групі СЧ пацієнтів DD генотип зустрічався у 26,1 %, у групі СР – у 60,8 %, що більш ніж у 2 рази перевищувало розповсюдженість цього генотипу серед СЧ ( $\chi^2=46,13$ ,  $p<0,001$ ). Гетерозиготи становили 43,5 % серед СЧ і 21,7 % у групі СР ( $\chi^2=10,9$ ,  $p<0,01$ ). Таким чином, у групі СЧ пацієнтів розподіл генотипів відповідав закону Харді-Вайнберга, а в групі СР переважав DD генотип.

Аналіз даних анамнезу окремо у кожній клінічній групі (СЧ та СР) також показав зв'язок D алелі з обтяженою спадковістю по ЕАГ. У групі СР поширеність обтяженого анамнезу

при DD генотипі становила 75 %, у групі СЧ – 100 %. У групі СЧ з DD генотипом АГ у 87,5 % випадків була пов'язана з цукровим діабетом і у 75 % – з ожирінням. 41,6 % СР пацієнтів з DD генотипом мали ожиріння, а серед СЧ – лише 25 %, тоді як серед ІD та ІІ генотипів ожиріння було відзначено у 90 та 80 % пацієнтів відповідно (табл. 1). У солечутливих гіпертоніків активність АПФ була вищою порівняно з резистентними, що свідчить про активацію РАС у цій групі пацієнтів. Ожиріння асоціювало з І алелем та АГ, чутливою до солі.

У СЧ гіпертоніків визначено більш суттєві порушення в електролітному балансі та відзначено підвищення активності АПФ, що свідчить про активацію РАС (табл. 2). Зв'язок АГ з ожирінням та РАС підтверджується даними про те, що зменшення маси тіла корелює зі зниженням попередника АПІІ – ангіотензиногену плазми [7]. Адипоцити значною мірою синтезували АПІІ, активували РАС, що стимулювало реабсорбцію натрію. Отже, тенденція до підвищення активності АПФ, відзначена у групі СЧ пацієнтів порівняно із СР, зумовлена розповсюдженістю ожиріння в цій групі.

Надмірне споживання харчової солі частіше зустрічається у пацієнтів з ІD та ІІ генотипами. Серед СЧ пацієнтів з ІD генотипом надмірне споживання солі виявлено у 90 %, а серед СР із цим генотипом – у 80 %.

З метою визначення статистичної достовірності взаємозв'язку між генотипом АПФ і деякими клініко-гемодинамічними особливостями перебігу АГ у СЧ пацієнтів було проведено кореляційний аналіз між цими параметрами (табл. 3). У цілому по двох групах пацієнтів встановлено тісний і достовірний взаємозв'язок І/D поліморфізму гена АПФ з розповсюдженістю ішемічної хвороби серця (ІХС) ( $p < 0,05$ ). У СЧ гіпертоніків поліморфізм гена АПФ статистично вірогідно корелював з обтяженою спадковістю по ЕАГ ( $p < 0,05$ ), надмірним сольовим режимом ( $p < 0,01$ ), розповсюдженістю ІХС ( $p < 0,05$ ), ожирінням ( $p < 0,05$ ) і цукровим діабетом ( $p < 0,05$ ). У групі СР пацієнтів встановлено достовірний зв'язок між генотипом та обтяженою спадковістю ( $p < 0,05$ ) і ожирінням ( $p < 0,05$ ).

**ВИСНОВКИ.** 1. У пацієнтів з АГ, чутливою до солі, розподіл алелей гена АПФ відповідає закону Харді-Вайнберга, а серед гіпертоніків, резистентних до солі, розповсюджений DD генотип.

2. Резистентність артеріального тиску до солі асоціює з DD генотипом, більш вираженим порушенням ліпідного обміну та ішемічною хворобою серця.

3. При гіпертонії, чутливій до вмісту солі, встановлено зв'язок ІІ генотипу з ожирінням, надмірним споживанням солі та високим порогом чутливості до солі.

Таблиця 1 – Клінічна характеристика СЧ та СР пацієнтів залежно від поліморфізму гена АПФ

Клінічні дані	СР			СЧ		
	DD (n=12)	ID (n=5)	II (n=6)	DD (n=8)	ID (n=10)	II (n=5)
Обтяжена по ЕАГ спадковість, %	75	60	33,4	100	70	40
Надмірне споживання солі, %	16,7	80	50	37,5	90	80
Ожиріння, %:	41,6	20	–	25	80	40
ІХС, %	75	60	50	75	60	–
Цукровий діабет, %	33,4	40	33,4	87,5	40	40

Таблиця 2 – Вміст електролітів і ліпідів у пацієнтів із АГ залежно від чутливості до солі

Показники	СЧ (n=12)	СР (n=15)	Контроль (n=12)
АПФ, мкмоль·л <sup>-1</sup> ·хв <sup>-1</sup>	45,2±4,4	34,7±5,5	35,7±4,1
Na, ммоль/л	150,3±3,3*	137,1±1,7*	139,7±1,7**
K, ммоль/л	3,92±0,19*	4,42±0,15	4,22±0,16
Na/K	38,6±2,6*	31,5±1,05	33,5±1,25

Таблиця 3 – Кореляційна залежність між поліморфізмом гена АПФ і окремими клінічними даними у пацієнтів з гіпертензією, чутливою та резистентною до солі

Клінічні дані	Коефіцієнт спряженості й рівень значимості, С/р	
	СР (n=23)	СЧ (n=23)
ІХС	0,23 > 0,05	0,56 < 0,01
Цукровий діабет	0,28 > 0,05	0,45 < 0,01
Надмірне споживання солі	0,28 > 0,05	0,52 < 0,01
Обтяжена спадковість по ЕАГ	0,35 < 0,05	0,55 < 0,01
Ожиріння	0,39 < 0,01	0,51 < 0,01

## ЛІТЕРАТУРА

1. Голиков П.П., Николаева Н.Ю. Экспресс-метод определения активности ангиотензинпревращающего фермента в сыворотке крови // Клини. лаб. диагностика. – 1998. – № 1. – С. 11-13.
2. Маниатис Т., Фрич Е., Сембрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. – М.: Мир, 1984. – 243 с.
3. Botertson J.I.S., Nicholis M.G. The renin-angiotensin system, biochemistry-physiology // Gower Medical Publishing. – 1993. – P. 14.1-14.8.
4. Cambiev F., Soubrier F. The angiotensin-converting enzyme: molecular biology and implication of the gene polymorphism in cardiovascular diseases // Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis and Management, edited by J.H. Laragh J.H., Brenner B.M. – New York, 1995. – P. 1667-1681.
5. Giner V., Poch E., Oriola J. et al. Angiotensin-converting enzyme (ACE): gene polymorphism and salt-sensitivity in essential hypertension // Hypertension. – 1999. – 17 (Suppl. 3). – P. 171.
6. Margues G.M.D., Krieger J.E., Casarini D.E. Angiotensin-converting enzyme: a possible genetic marker of hypertension // Hypertension. – 2002. – 20 (Suppl. 4). – P. 263.
7. Ortlepp J.R., Breuer J., Eitner F. et al. Inhibition of the renin-angiotensin system ameliorate genetically determined hyperinsulinemia // Eur. J. Pharmacol. – 2002. – 436, № 1-2. – P.145-150.
8. Shaumugar V., Sele K.W., Saka B.K. Mistyping ACE heterozygotes // PCR Methods Appl. – 1993. – № 3. – P. 120-125.
9. Unger T. The role of the renin-angiotensin system in the development of cardiovascular disease // Am. J. Cardiol. – 2002. – 24, № 89 (2A). – P. 3A-9A.

## КЛИНИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ СОЛЕЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ И РЕЗИСТЕНТНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА АНГИОТЕНЗИНПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА

Н.А. Кравченко<sup>1</sup>, А.Б. Львова<sup>2</sup>, С.В. Виноградова<sup>1</sup>, И.В. Шуль<sup>1</sup>

ИНСТИТУТ ТЕРАПИИ АМН УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ<sup>1</sup>

ХАРЬКОВСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ<sup>2</sup>

### Резюме

На основании клинического анализа, и полиморфизма гена ангиотензинпревращающего фермента определено, что среди солерезистентных гипертоников распространен DD генотип. В группе солечувствительных гипертоников установлена связь II генотипа с ожирением, избыточным потреблением соли. У солечувствительных пациентов отмечены высшая активность ренин-ангиотензиновой системы по сравнению с солерезистентными и более выраженное нарушение электролитного обмена.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ренин-ангиотензиновая система, ангиотензинпревращающий фермент, эссенциальная гипертензия, солерезистентность, инсерция/делеция полиморфизма, электролиты.

## CLINICAL AND BIOCHEMICAL FEATURES OF SALT-SENSITIVE AND RESISTANT HYPERTENSION DISPLAY IN DEPENDENCE ON ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME GENE POLYMORPHISM

N.O. Kravchenko<sup>1</sup>, A.B. Lvova<sup>2</sup>, S.V. Vynogradova<sup>1</sup>, I.V. Shoot<sup>1</sup>

INSTITUTE OF THERAPY OF AMS OF UKRAINE, KHARKIV<sup>1</sup>

KHARKIV MEDICAL ACADEMY OF POSTGRADUATE EDUCATION<sup>2</sup>

### Summary

On the basis of clinical analysis and polymorphism of angiotensin-converting enzyme gene it was established that among the patients with salt-resistant hypertension DD genotype was more frequent. In the group of salt-sensitive hypertonics the connection of II genotype with obesity and overall salt consumption was found. In salt-sensitive patients the renin-angiotensin system activity was higher and disturbances of electrolytic metabolism was more significant in comparison with salt-resistant ones.

KEY WORDS: renin-angiotensin system, angiotensin-converting enzyme, essential hypertension, salt-resistance, insertion/deletion of polymorphism, electrolytes.

Адреса для листування: Н.О. Кравченко, відділ генетики атеросклерозу Інституту терапії АМН України, пр. Постишева, 2-А, Харків, 61039, Україна.

## ВИЗНАЧЕННЯ ПЛАЗМОВОГО ФІБРОНЕКТИНУ ПРИ ПАТОЛОГІЯХ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

Н.В. Лутай, О.З. Бразалук, М.І. Хворостенко  
ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

*У даній роботі досліджено рівень плазмового фібронектину (ФН) у крові хворих на рак щитоподібної залози. Вміст плазмового ФН визначали до і після операції та гормонального лікування. У плазмі хворих з доброякісними пухлинами він збільшувався порівняно з вихідним значенням. Значних змін його рівня після лікування хворих з карциномою щитоподібної залози не виявлено. Отримані дані можуть бути одним із прогностичних факторів в оцінці стану організму й ефективності лікування пухлин щитоподібної залози.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** фібронектин, щитоподібна залоза, пухлина.

**ВСТУП.** Фібронектин (ФН) є високомолекулярним поліфункціональним глікопротеїном (молекулярна маса – приблизно 450 кДа), що складається з двох субодиниць, з'єднаних між собою дисульфідними зв'язками [2, 5]. У його молекулі є специфічні локуси (домени), що афінно зв'язуються з колагеном, фіброген/фібрином, гепарином, інтегриновими рецепторами клітинних мембран, ДНК, С1q-фактором комплементу, фактором XIII та іншими макромолекулами [2]. Біологічна активність ФН проявляється у таких процесах, як адгезія, міграція, ріст і диференціювання клітин [5].

Відомо, що існує залежність між концентрацією ФН у плазмі крові й рівнем тиреоїдних гормонів. Показано, що у пацієнтів з карциномою щитоподібної залози після повної тиреоїдектомії вміст плазмового ФН значно знижувався порівняно з нормою. Після проходження курсу лікування, при якому хворі протягом 6 тижнів приймали L-тироксин, він став вищим порівняно з вихідним значенням і нормою [6]. Існують дані про зниження рівня плазмового ФН при доброякісних захворюваннях щитоподібної залози [1]. Перспективним є вивчення онкофетального ФН – ізоформи ФН, що експресується в ембріональних і пухлинних тканинах. Так, у недавніх дослідженнях показано специфічну локалізацію мРНК онкофетального ФН у тканинах папілярної та анапластичних карцином, яка не була характерна для інших форм раку.

Мета дослідження полягала у вивченні динаміки рівня ФН у плазмі крові онкохворих при доброякісних і злоякісних новоутвореннях щитоподібної залози.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** ФН вивчали у складі цитратної плазми хворих (n=25) віком від 27 до 73 років, з яких 1-шу групу склали 7 хворих з доброякісними новоутвореннями щитоподібної залози; 2-гу – 9 пацієнтів з карциномою щитоподібної залози після видалення пухлини, яких обстежували до і після проведення курсу лікування; 3-тю – 9 хворих, у яких досліджували вміст ФН до і після тиреоїдектомії. У більшості хворих 2-ї і 3-ї груп було діагностовано папілярний рак II стадії. Вміст ФН у складі плазми крові визначали методом кількісного ракетного імуоелектрофорезу з використанням моноспецифічної кролячої антисироватки до ФН. Антисироватку до плазмового ФН було отримано шляхом імунізації кроликів очищеним препаратом ФН людини ("Chemicon", США) у повному ад'юванті Фрейнда. Для виконання імуоелектрофорезу використовували 1 % гель агарози, що містить антисироватку до ФН у кількості 68,75 мкл/мл. Електрофорез проводили протягом 16-18 год при напруженості електричного поля в гелі 1-2 В/см.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати дослідження представлено на рисунку 1. Нормальне значення ФН у плазмі крові здорових людей дорівнювало  $(352 \pm 14)$  мкг/мл згідно з даними, наведеними [3]. Як видно з рисунка

© Н.В. Лутай, О.З. Бразалук, М.І. Хворостенко, 2004.

1, у 1-й групі рівень плазмового ФН до операції незначно відрізнявся від норми ((328±91) мкг/мл), а після операції спостерігало його значне збільшення ((519±49) мкг/мл) відносно норми. У 2-й групі до проведення курсу лікування вміст плазмового ФН перевищував нормальне значення (394±79 мкг/мл), а після проходження гормональної терапії його кількість незначно зросла ((436±73) мкг/мл). У 3-й групі до операції вміст плазмового ФН був нижчим норми ((279±64) мкг/мл), а після операції підвищився практично до норми ((348±34) мкг/мл). Таким чином, для всіх трьох досліджених груп онкохворих виявила загальна тенденція до збільшення рівня плазмового ФН після проведення лікування.

Відомо, що між рівнем тироксину і вмістом плазмового ФН у крові існує позитивна кореляція [4]. Тому отриману тенденцію до підвищення рівня ФН можна пояснити впливом L-тироксину, який приймали хворі після операції (1-ша і 3-тя групи) чи в процесі курсу лікування (2-га група). У післяопераційний період при доброякісних новоутвореннях рівень ФН у плазмі був значно вищим, ніж у хворих з карциномою щитоподібної залози в той же період. Імовірно, це пов'язано з різним функціональним станом щитоподібної залози на тлі приймання L-тироксину і лікування радіоактивним йодом. Характерним для 2-ї групи виявився відносно незмінний вміст плазмового ФН, що вказує на відносно стабільний функціональний стан щитоподібної залози. Практично незмінний вміст ФН у 2-й групі до і після лікування радіоактивним йодом та L-тироксином можна пояснити тим, що дана група хворих раніше пройшла інтенсивну терапію.

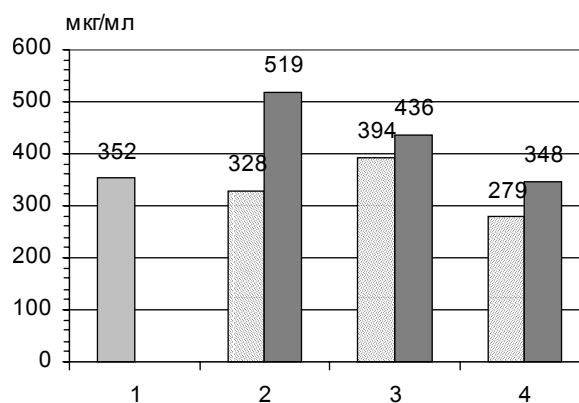


Рис. 1. Вміст ФН у плазмі крові у нормі й при захворюваннях щитоподібної залози: 1 – норма; 2 – доброякісні новоутворення (до і після операції відповідно); 3 – карцинома після видалення пухлини (до і після курсу лікування); 4 – папілярна карцинома (до і після операції).

Визначення концентрації плазмового ФН може бути ще одним додатковим клінічним тестом об'єктивної оцінки функціонального стану щитоподібної залози при пухлинних процесах, а також ефективності проведеного лікування.

**ВИСНОВКИ.** 1. У хворих з доброякісними пухлинами щитоподібної залози тиреоїдектомія сприяє підвищенню рівня ФН у плазмі крові в найближчий термін спостереження.

2. Комплексне лікування папілярної форми раку щитоподібної залози істотно не вплинуло на вміст ФН у плазмі крові.

3. Визначення рівня ФН у плазмі крові хворих на рак щитоподібної залози можна використати в клініці для визначення якості проведеного лікування.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Резніченко А.М., Хренов О.А., Клішевич І.Б. Рівень і кріопреципітуюча активність фібронектину в плазмі крові у хворих на гіперпластичні захворювання щитоподібної залози в передопераційному і ранньому післяопераційному періодах // Одеський мед. журн. – 2001. – № 4 (66). – С. 11-12.
2. Себко Т.В., Алиев В.А. Фибронектин и беременность // Вестник АМН СССР. – 1991. – № 2. – С. 46-50.
3. Харрасов А.Ф., Сафина Н.А., Мороз И.П., Зинкевич О.Ф. Уровень плазменного фибронектина и его биологическая активность у больных раком

- яичников // Вопросы онкологии. – 1991. – **37**, № 5. – С. 572-575.
4. Graninger W., Pirich K., Defler K., Waldhausl W. Plasma fibronectin and thyroid function // J. Clin. Path. – 1985. – **38**. – P. 64-67.
5. Pankov R., Yamada K.M. Fibronectin at a glance // J. Cell Science. – 2002. – **115**. – P. 3861-3863.
6. Watzke H., Schwarz H.P., Weissel M. Fibronectin during thyroid hormone replacement therapy // Tromb. Res. – 1987. – **46**, № 2. – P. 347-353.



## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЛАЗМЕННОГО ФИБРОНЕКТИНА ПРИ ПАТОЛОГИЯХ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

**Н.В. Лутай, А.З. Бразалук, М.И. Хворостенко**  
ДНЕПРОПЕТРОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

### Резюме

В данной работе исследовано уровень плазменного фибронектина (ФН) в крови больных раком щитовидной железы. Содержание плазменного ФН определяли до и после операции и гормонального лечения. В плазме больных с доброкачественными опухолями он увеличивался по сравнению с исходным значением. Значительных изменений его уровня после лечения больных с карциномой щитовидной железы не обнаружено. Полученные данные могут служить одним из прогностических факторов в оценке состояния организма и эффективности лечения опухолей щитовидной железы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фибронектин, щитовидная железа, опухоль.

## DETECTION OF PLASMA FIBRONECTIN AT THYROID PATHOLOGIES

**N.V. Lutay, O.Z. Brazaluk, M.I. Khvorostenko**  
DNIPROPETROVSK STATE MEDICAL ACADEMY

### Summary

The investigation of fibronectin (FN) level in blood plasma of the patients with thyroid tumors is presented in this work. Content of plasma FN has been measured before and after thyroidectomy and hormonal treatment. FN level in plasma of the patients with benign tumor has increased as compared to initial value. No significantly changes of FN level were found in the patients with thyroid carcinoma after treatment. Obtained data can be serve as one of prognostic factors for estimation of organism condition and for treatment efficiency of thy-roid tumors.

KEY WORDS: fibronectin, thyroid gland, tumor.

Адреса для листування: Н.В. Лутай, Дніпропетровська державна медична академія, Дніпропетровськ, 49000, 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, № 3, 2004

## ВПЛИВ НОВОЇ СИНТЕТИЧНОЇ АНТИТИРЕОЇДНОЇ СПОЛУКИ НА ДИНАМІКУ ВМІСТУ ХОЛЕСТЕРИНУ В КРОВІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН

**В.М. Кравченко**

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

*Проведено вивчення метаболізму ліпідів у тварин при тривалому введенні їм потенційного тиреостатичного лікарського препарату "Тетракон" з метою встановлення його нешкідливості. Визначали динаміку вмісту холестерину в сироватці крові протягом 6 місяців. У результаті експерименту виявлено деякі зміни в динаміці вмісту холестерину в сироватці крові, що дозволило зробити висновок про відсутність негативного впливу тетракону на основний показник ліпідного обміну при тривалому введенні. Механізми дії досліджуваного препарату і мерказолілу на рівень холестерину в крові однонаправлені.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** метаболізм ліпідів, холестерин, тетракон, мерказоліл, нешкідливість.

**ВСТУП.** Численні експериментальні дані свідчать про порушення ліпідного обміну при тиреоїдній патології [1, 3, 6, 7, 8, 9, 10]. Наприклад, при гіпотиреозі спостерігається збільшення рівня холестерину в крові, тригліцеридів  $\beta$ -ліпопротеїдів, що пов'язано зі зниженою їх утилізацією тканинами і сповільненим метаболізмом [7, 9, 11]. При гіпертиреозі характерне зменшення концентрації холестерину в крові. Останні дослідження з  $^{14}\text{C}$ -метаболітами показали, що такі зміни рівня холестерину в плазмі залежать від швидкості його катаболізму в печінці. Тому при гіпертиреозі, незважаючи на підвищене утворення холестеролу з ацетату, одночасно відбувається ще швидше його руйнування, що і зумовлює гіпохолестеринемію [8, 11, 12].

Проведені нами раніше дослідження на тваринах з експериментальним тиреотоксикозом підтвердили динаміку порушень ліпідного обміну, зокрема зміни у вмісті холестерину в сироватці крові [2].

Відповідно до вимог Фармакологічного комітету МОЗ України, необхідно проводити вивчення загальної та хронічної токсичності перспективних тиреостатичних і тиреоїдстимулювальних препаратів з метою доказу нешкідливості випробовуваних фармакологічних речовин [4].

© В.М. Кравченко, 2004.

Метою даного дослідження було вивчення нешкідливості нового потенційного препарату з тиреостатичною дією "Тетракон" в умовах тривалого експерименту. Дану сполуку в Національному фармацевтичному університеті вивчають як потенційний тиреостатичний лікарський засіб.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Досліди проводилися на безпородних щурах масою 180-200 г. Їх було поділено на три групи: 1-ша – тварини, яким вводили досліджуваний препарат "Тетракон"; 2-га – тварини, яким вводили мерказоліл; 3) інтактні тварини (контроль), які одержували плацебо. Препарати, які вивчали, вводили внутрішньошлунково в максимальній дозі (100 мг/кг) у вигляді водних розчинів, стабілізованих твіном-80, щоденно. Тварин усіх трьох груп утримували в однакових умовах віварію на стандартному раціоні харчування. Забої щурів проводили через 1, 2, 4 і 6 місяців. Вивчали різні показники, що характеризують функціональний стан органів і систем організму, стан метаболізму білків, вуглеводів, ліпідів. Визначали рівень холестерину в сироватці крові як один з найважливіших показників ліпідного обміну. Концентрацію його визначали за методом Ілька [5]. Тривале введення мерказолілу проводили з метою встановлення ідентичності або відмінності його впливу на по-

казник, який вивчали, порівняно з тетраконом. Результати оброблено методами непараметричної статистики з використанням критерію Фішера-Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** З одержаних даних видно (табл. 1), що вміст холестерину в сироватці крові практично не змінюється під впливом досліджуваних препаратів і лише через 4 місяці після введення тетракону відбувається статистично достовірне зниження порівняно з групою контрольних тварин у цей термін спостереження, що, мабуть, можна пояснити дією досліджуваних речовин на синтез тиреоїдних гормонів щитоподібної залози. Зміни тиреоїдного статусу спричиняють порушення ліпідного обміну в разі як збільшення, так і зменшення синтезу гормонів щитоподібної залози. Вони посилюють синтез, мобілізацію та, особливо, деградацію ліпідів, знижують рівень холестерину в сироватці крові [6, 7, 9]. При подальшому введенні тетракону, до кінця спостереження (6 місяців), відбувається нормалізація вмісту холестерину в сироватці крові,

що дозволяє говорити про непатологічні зміни показника, які, ймовірно, є розвитком компенсаторних реакцій в організмі тварин. Рівень холестерину може знижуватися також за рахунок посилення процесів катаболізму його в печінці [8, 11]. Ймовірний тривалий вплив досліджуваних препаратів, що проявляють тиреостатичну дію, призводить до розвитку стану гіпотиреозу і, відповідно, до підвищення вмісту холестерину в крові [1, 2, 12].

Маса тварин впродовж усього експерименту не зазнавала істотних змін. Спостерігалось деяке її збільшення до кінця періоду спостереження, що може бути пов'язано з природним ростом щурів.

**ВИСНОВОК.** Потенційний лікарський препарат з тиреостатичною дією "Тетракон", який вивчали, не чинить негативного впливу на показник ліпідного обміну у тварин при тривалому введенні. Закономірності впливу досліджуваних препаратів "Тетракон" і "Мерказоліл" на рівень холестерину в крові аналогічні.

Таблиця 1 – Динаміка вмісту холестерину в сироватці крові експериментальних тварин

Групи тварин	Кількість холестерину в сироватці крові, ммоль/л			
	Терміни проведення досліджень			
	1-й місяць (n=60)	2-й місяць (n=45)	4-й місяць (n=30)	6-й місяць (n=15)
1. Одержували тетракон	8,16±0,39	6,83±0,77	5,51±0,52*	7,18±0,46
2. Отримували мерказоліл	7,82±0,53	5,91±0,42	6,51±0,6	6,94±0,45
3. Інтактні тварини (контроль)	6,43±0,37	7,10±0,56	7,35±0,44	7,05±0,33
Маса, г	186,6±22,4	197,1±27,6	198,3±36,9	209,5±34,5

Примітка. \* –  $p < 0,05$  відносно групи контрольних щурів;  
n – кількість тварин у групі.

#### ЛІТЕРАТУРА

- Браверман Л.И. Болезни щитовидной железы. – М.: Медицина, 2000. – 432 с.
- Воронина Л.Н., Таран С.Г., Кравченко В.Н., Кравченко А.Б. Влияние производного малоновой кислоты на некоторые звенья липидного обмена в условиях экспериментального тиреотоксикоза // Лекарства – человеку: Межд. сб. научн. трудов научн.-практ.конф. по созданию и апробации новых лек. средств. – Каунас, 3-5 ноября 1997. – 5. – С. 75-77.
- Джон А. Лейкок, Питер Г. Вайс. Основы эндокринологии: Пер. с англ. – М.: Медицина, 2000. – 502 с.
- Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. О.В. Стефанова. – К.: Видавничий дім "Авіценна", 2001. – С. 409-420.
- Комаров Ф.И., Коровкин Б.Ф., Меншиков В.В. Биохимические исследования в клинике. – Элиста: АПП "Джангар", 1998. – 250 с.
- Никитин В.Н., Бабенко Н.А. Тиреоидные гормоны и липидный обмен // Физиол. журнал. – 1989. – 35, № 3. – С. 91-98.
- Поляченко Л.Ю., Покотиленко Т.М. Показатели обмена липидов при нарушении функции щитовидной железы // Врач. дело. – 1976. – № 10. – С. 70-72.
- Рачев Р.Р., Ещенко Н.Д. Тиреоидные гормоны и субклеточные структуры. – М.: Медицина, 1975. – С. 294.
- Теппермен Дж., Теппермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы // Вводный

курс: Пер. с англ. – М.: Мир, 1989. – С. 656.  
10. Deschamphelire M., Luyckx F.H., Scheen A.J.  
Thyroid disorders and dyslipidemias // Rev. Med.  
Liege. – 1999. – **54**, № 9. – P. 746-750.  
11. Sassolas A., Cartier R. Hypocholesterolemias:

causes and diagnosis // Ann. Diol. Clin. – 1999. – **57**,  
№ 5. – P. 555-560.  
12. Yen P.M. Physiological and molecular basis of  
thyroid hormone action // Physiol. Rev. – 2001. – **81**,  
№ 3. – P. 1097-1142.

## **ВЛИЯНИЕ НОВОГО СИНТЕТИЧЕСКОГО АНТИТИРЕОИДНОГО СОЕДИНЕНИЯ НА ДИНАМИКУ СОДЕРЖАНИЯ ХОЛЕСТЕРИНА В КРОВИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ**

**В.Н. Кравченко**

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

### **Резюме**

*Проведено изучение метаболизма липидов у животных при длительном введении им потенциального тиреостатического лекарственного препарата "Тетракон" с целью установления его безвредности. Определяли динамику содержания холестерина в сыворотке крови в течении 6 месяцев. В результате эксперимента выявлены некоторые изменения в динамике содержания холестерина в сыворотке крови, которые к концу опыта нормализовались и потому, на наш взгляд, не являлись патологией, что позволило сделать вывод об отсутствии негативного влияния тетракона на основной показатель липидного обмена при длительном введении. Механизмы действия исследуемого препарата и мерказолила на уровень холестерина в крови однонаправлены.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: метаболизм липидов, холестерин, тетракон, мерказолил, безвредность.**

## **INFLUENCE OF THE NEW SYNTHETIC ANTITHYROID PREPARATION ON THE DYNAMICS OF CHOLESTEROL LEVEL IN BLOOD OF THE EXPERIMENTAL ANIMALS**

**V.M. Kravchenko**

NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

### **Summary**

*Research of the lipid metabolism of the rats under the prolonged administration of the potential antythyroid preparation "Tetracon" was carried out with order to determine its safety. Dynamics of the blood cholesterol level was investigated during six months. Obtained results of the experiment showed some changes in the dynamics of cholesterol level in blood serum, which normalized to the end of experiment. So, to our opinion, these changes were not pathological, and we can make the conclusion about absence of negative influence of tetracon on the lipid metabolism of the rats under the prolonged administration. Mechanisms of action of investigated preparation on the blood cholesterol level are similar under the administration of tetracon and mercasolil.*

**KEY WORDS: lipid metabolism, cholesterol, tetracon, mercasolil, safety.**

**Адреса для листування:** В.М. Кравченко, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.

## ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПОКАЗНИКІВ ВТОРИННОЇ ТОКСИЧНОЇ АВТОАГРЕСІЇ У НЕМОВЛЯТ ІЗ УСКЛАДНЕНИМ ПЕРЕБІГОМ ПНЕВМОНІЇ

А.О. Клименко, Л.М. Сенюта, О.Л. Цимбаліста  
ІВАНО-ФРАНКІВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

*Пневмонія займає одне з перших місць серед причин дитячої смертності. Важкість перебігу і несприятливий прогноз визначаються ендотоксикозом та гіпоксією, які призводять до розвитку вторинної токсичної автоагресії. У статті наведено порівняльну характеристику показників вторинної токсичної автоагресії залежно від типу ускладнень та ступеня токсикозу у хворих на пневмонію немовлят.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** пневмонія, дієнові кон'югати, активний тіобарбітуровий продукт, каталаза, молекули середньої маси.

ВСТУП. Пневмонія займає четверте місце серед причин смертності дітей першого року життя і п'яте – серед причин дитячої смертності в цілому.

Основними ланками патогенезу, які зумовлюють важкість перебігу і несприятливий прогноз, є гіпоксія та ендотоксикоз [6]. Ендотоксикоз характеризується рівнем токсинемії. В основі головних патогенетичних механізмів лежать генерація реакційноздатних радикальних продуктів та окисна деструкція біополімерів, включаючи перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ). Високий рівень продуктів ПОЛ та молекул середньої маси (МСМ) проявляє виражену альтеруючу дію на організм у формі вторинної токсичної автоагресії (ВТАА), тобто може підтримувати запалення, викликати бронхоспастичні реакції, деструкцію легеневої паренхіми і розвиток фіброзної тканини, посилювати порушення імунної системи [1].

Мета даної роботи – дослідити механізми розвитку ВТАА та особливості реагування немовлят з ускладненим перебігом пневмонії на дореанімаційному етапі.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Нами проведено клінічні спостереження за 163 хворими на ускладнену пневмонію дітьми віком від одного місяця до одного року. Всіх пацієнтів умовно поділили на три групи за типом ускладнень

© А.О. Клименко, Л.М. Сенюта, О.Л. Цимбаліста, 2004.

та вираженням проявів ендотоксикозу. До 1-ї групи ввійшло 61 немовля з ускладненою обструктивним синдромом пневмонією без виражених клінічних проявів ендотоксикозу, до 2-ї – 47 немовлят з ускладненою токсичним синдромом пневмонією, до 3-ї – 55 немовлят з поєднанням токсичного та обструктивного синдромів на тлі пневмонії. Контрольну групу склали 20 здорових дітей відповідного віку. Результати проведених досліджень оброблено методом варіаційної статистики та методом кутового перетворення Фішера.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Стан ПОЛ оцінювали за рівнем дієнових кон'югат (ДК) за методом [3] та активного тіобарбітурового продукту (ТБК-ап) за методом Б.В. Гаврилова в модифікації Е.Н. Коробейникової (1989) [4]. Рівень антиоксидного захисту оцінювали за показниками каталази за методом А.Н. Баха і С. Зубкової, а токсинемії – за показниками екстинкції МСМ при довжині хвилі 254 нм (нуклеотиди) та 280 нм (пептиди) у плазмі крові та на еритроцитах за методом М.Я. Малахової [5]. Вплив продуктів ВТАА на організм – за лейкоцитарними індексами інтоксикації (ЛІІ) Кальф-Каліфа, Островського та Хімича [2, 5].

У всіх досліджуваних клінічних групах спостерігаються достовірні підвищення рівня ДК та ТБК-ап і різке зниження вмісту каталази. Рівень ДК та ТБК-ап вірогідно більший у 2-й та



3-й групі порівняно з 1-ю, тобто залежить від тяжкості ендотоксикозу. Відмінність між 2-ю та 3-ю групами достовірна тільки при визначенні вмісту ДК ( $p < 0,05$ ) і не достовірна для ТБК-ап. Обидва показники при наявності токсикозу вірогідно вищі, ніж у 1-й групі, але не відрізняються у хворих з токсикозом різного ступеня.

Рівень каталази (табл. 1) в усіх групах достовірно нижчий, ніж у контрольній, та відрізняється між клінічними групами ( $p < 0,001$  в усіх випадках). Показники каталази, на відміну від ПОЛ, виявляють більшу залежність від гіпоксії – більш виражені в 2-й і, особливо, 3-й групах, але цілком не залежать від ступеня токсикозу (табл. 2).

Прояви ендотоксемії мали місце у всіх обстежуваних (табл. 1). Рівень екстинкції МСМ у сироватці крові та на еритроцитах хворих достовірно перевищував контрольні показники в усіх трьох групах ( $p < 0,001$ ). Незважаючи на відсутність клінічних проявів токсикозу, в 1-й групі також виявлено токсемію, що свідчить про повну компенсацію даного процесу системами детоксикації організму. В пацієнтів 2-ї групи рівень МСМ на мембранах еритроцитів не відрізнявся від такого у 1-й, але був достовірно вищим у пробах плазми. У 3-й групі рівень обох фракцій МСМ у плазмі аналогічний показникам 2-ї групи, але вміст нуклеотидів на еритроцитах значно більший, ( $p < 0,001$ ). Цікаво, що рівень середньомолекулярних пептидів на поверхні еритроцитів однаковий в усіх досліджуваних клінічних групах, хоч і різко перевищує показники контрольної. Таким чином, при порівнюванні вмісту олігонуклеотидів та олігопептидів спостерігається відповідність показників МСМ в усіх групах фазі тимчасової зворотної декомпенсації систем та органів детоксикації (висока концентрація МСМ в еритроцитах та плазмі крові за рахунок як катаболічного пулу, так і продуктів спотвореного обміну речовин).

Вміст МСМ залежав також від ступеня токсикозу (табл. 2) на момент госпіталізації, за винятком фракції олігопептидів на еритроцитах. Рівень катаболічного пулу вищий у дітей з проявами токсикозу, ніж у 1-й групі ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ), але не залежить від ступеня токсикозу. Достовірні відмінності вмісту МСМ між дітьми з токсикозом першого та другого ступенів спостерігаються у плазмі крові. Незважаючи на наростання тяжкості токсикозу, при токсикозі другого ступеня вміст МСМ на еритроцитах більше не підвищується, а продовжує зростати у плазмі, здебільшого за рахунок пулу середньомолекулярних пептидів ( $p < 0,001$ ). Це пояснюється втратою мембранами еритроцитів детоксикаційної

сорбційної функції на тлі прогресуючих патохімічних змін та гіпоксії, що зумовлює прогресування клінічних проявів токсикозу.

Частка дітей з підвищеним ЛІІ Кальф-Каліфа достовірно збільшувалась у міру зростання напруження адаптивних механізмів від 1-ї групи – 11,48 % до другої – 29,79 % ( $p = 0,017$ ) та від 2-ї до 3-ї – 50,91 % ( $p = 0,029$ ). Однак вірогідну різницю констатовано між 1-ю ( $0,45 \pm 0,06$ ) та 2-ю ( $0,85 \pm 0,14$ , ( $p < 0,01$ ) групами і між 1-ю та 3-ю ( $1,14 \pm 0,14$ ) ( $p < 0,001$ ). Тобто достовірна відмінність значень ЛІІ Кальф-Каліфа має місце між хворими без синдрому токсикозу – з одного боку та між усіма пацієнтами з токсикозом (1-а та 2-га групи) з іншого без різниці між 2-ю та 3-ю групами.

Підвищений ЛІІ Островського також частіше зустрічався у 2-й (63,83 % випадків,  $p = 0,043$ ) та 3-й групах (74,55 %,  $p < 0,001$ ), ніж у 1-й (44,26 %). Як і при дослідженні ЛІІ Кальф-Каліфа, достовірну різницю констатовано між 1-ю ( $0,45 \pm 0,06$ ) та 2-ю ( $0,85 \pm 0,14$ ,  $p < 0,01$ ) і 1-ю та 3-ю ( $1,14 \pm 0,14$ ,  $p < 0,001$ ).

Підвищений ЛІІ Хіміча достовірно частіше зустрічався і був вірогідно вищим тільки у 3-й групі (83,64 % випадків,  $p = 0,016$ ,  $1,31 \pm 0,12$ ,  $p < 0,01$ ), порівняно з 1-ю. Різниця між 1-ю та 2-ю, 2-ю та 3-ю групами не виявлено.

ЛІІ Кальф-Каліфа в 1-й групі та при токсикозі першого ступеня не виходив за межі норми, але при токсикозі другого ступеня достовірно перевищував показники у дітей без проявів токсикозу ( $p < 0,001$ ). ЛІІ Островського виявляв тенденцію до зростання при токсикозі першого ступеня і вірогідно збільшувався при токсикозі другого ступеня порівняно з 1-ю групою ( $p < 0,001$ ) та дітьми з токсикозом першого ступеня ( $p < 0,05$ ). ЛІІ Хіміча у пацієнтів 1-ї групи перевищував верхню межу норми на третину, при токсикозі першого ступеня – вдвічі, другого – у 2,5 рази. Розвиток токсикозу першого ступеня характеризується тенденцією до зростання даного індексу, токсикозу другого ступеня – його достовірним збільшенням ( $p < 0,05$ ) порівняно з дітьми без токсикозу.

**ВИСНОВОК.** На основі проаналізованих нами даних встановлено, що при ускладненій пневмонії у немовлят мають місце виражена активація процесів ПОЛ та виснаження антиоксидантного захисту. Надмірне збільшення рівня проміжних та кінцевих продуктів ПОЛ характерне для тяжких форм ендотоксемії з реалізацією в клініку токсичного синдрому. Зниження вмісту каталази зумовлене перш за все підвищенням її використання та поглиблюється при наростанні вентиляційної гіпоксії

Таблиця 1 – Залежність показників вторинної токсичної автоагресії у немовлят з ускладненим перебігом пневмонії від типу ускладнень

Показник		Контрольна, n=20	Групи хворих		
			1-ша, n=48	2-га, n=42	3-я, n=46
МСМ, у м. од.	на еритроцитах Д 254	0,443±0,015	0,694±0,040**	0,785±0,030**	1,012±0,029**.#.
	на еритроцитах Д 280	0,214±0,010	0,361±0,035**	0,376±0,039**	0,413±0,033**
	у плазмі Д 254	0,243±0,016	0,614±0,040**	0,795±0,047**.#	0,819±0,028**.#.#
	у плазмі Д 280	0,155±0,008	0,473±0,040**	0,649±0,052**.#	0,650±0,041**.#
ДК, ум.од.		0,766±0,033	0,855±0,020*	0,944±0,028**.#	1,028±0,022**.#.#.
ТБК-ап, нмоль/мл		2,61±0,31	3,93±0,17**	4,44±0,13**.#	4,60±0,19**.#
Каталаза, нмоль/мл плазми		8,29±0,24	4,85±0,25**	6,30±0,34**.#.#	4,17±0,22**.#.#.

Примітка. \* – достовірна відмінність показників відносно групи контролю,  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,001$ ;  
 # – достовірна відмінність показників відносно 1-ї групи,  $p < 0,05$ ; ## –  $p < 0,001$ ;  
 . – достовірна відмінність показників відносно 2-ї групи,  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,001$ .

Таблиця 2 – Залежність біохімічних показників від ступеня токсикозу у немовлят з ускладненим перебігом пневмонії

Показники		Контрольна, n=20	Хворі без явищ токсикозу, n=61	Токсикоз першого ступеня, n=32	Токсикоз другого ступеня, n=71
МСМ, ум. од.	на еритроцитах Д 254	0,443±0,015	0,694±0,040**	0,925±0,035**.#.#	0,891±0,034**.#.#
	на еритроцитах Д 280	0,214±0,01	0,361±0,035**	0,338±0,039*	0,423±0,032**
	у плазмі Д 254	0,243±0,016	0,614±0,040**	0,697±0,039**.#	0,861±0,033**.#.
	у плазмі Д 280	0,155±0,008	0,473±0,040**	0,492±0,039**.#.#	0,726±0,040**.#.#.
ДК, ум.од.		0,766±0,033	0,855±0,020*	0,963±0,032**	0,984±0,021**.#.#.
ТБК-ап, нмоль/мл		2,61±0,31	3,90±0,17**	4,64±0,18**.#	4,48±0,16**.#
Каталаза, мг Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub> в 1 мл крові		8,29±0,24	4,82±0,26**	5,59±0,46**	5,03±0,26**

Примітка. \* – достовірна відмінність показників відносно групи контролю,  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,001$ ;  
 # – достовірна відмінність показників відносно дітей без явищ токсикозу,  $p < 0,05$ ; ## –  $p < 0,001$ ;  
 . – достовірна відмінність показників відносно дітей з токсикозом першого ступеня,  $p < 0,05$ ;  
 \*\* –  $p < 0,001$

на тлі обструкції дихальних шляхів. Рівень МСМ в усіх групах відповідає фазі тимчасової зворотної декомпенсації систем та органів детоксикації (висока концентрація МСМ в еритроцитах та плазмі крові за рахунок як катаболічного пулу, так і продуктів спотвореного обміну речовин). Рівень екстинції МСМ у плазмі залежить від ступеня токсикозу. В дітей з про-

явами токсикозу спостерігається вищий рівень катаболічного пулу МСМ, який не залежить від ступеня токсикозу. ЛІІ Кальф-Каліфа та Хіміча виявилися чутливими детекторами наявності токсикозу в немовлят з пневмонією, але для оцінки ступеня токсикозу єдиним достовірно чутливим виявився ЛІІ Островського.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Биохимия человека / Под ред. Р. Марри Пер. с англ. В 2 т. – М.: Мир, 1993. – 720 с.
2. Гаврилов В.Б., Бидула М.М., Фурманчук Д.А. и др. Оценка интоксикации организма по нарушению баланса между накоплением и связыванием токсинов в плазме крови // Клини. лаб. диагностика. – 1999. – № 2. – С. 13-17.
3. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Хмара Й.Ф. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов // Лаб. дело. – 1998. – № 2. – С. 60-63.
4. Коробейникова Э.Н. Модификация опре-

- деления продуктов перекисного окисления липидов с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. – 1989. – № 7. – С. 8-10.
5. Медицинская лабораторная диагностика (программы и алгоритмы). Справочник / Под ред. А.И. Карпищенко. – С.Пб.: Интермедика, 1997. – 304с.
6. Семкович М.Я. Показники оксидантно-антиоксидантної системи у дітей раннього віку, хворих на пневмонію, що ускладнилася токсикозом, та їх корекція під впливом інтенсивної терапії: Автореф. дис. на здобуття наукового ступеня канд. мед. наук. – К., 1995.

# СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВТОРИЧНОЙ ТОКСИЧНОЙ АУТОАГРЕССИИ У МЛАДЕНЦЕВ С ОСЛОЖНЕННЫМ ТЕЧЕНИЕМ ПНЕВМОНИИ

А.А. Клыменко, Л.Н. Сенюта, О.Л. Цимбалиста  
ИВАНО-ФРАНКОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

## Резюме

Пневмония занимает одно из первых мест среди причин детской смертности. Тяжесть течения и неблагоприятный прогноз определяются эндотоксикозом и гипоксией, которые приводят к развитию вторичной токсичной аутоагрессии. В статье представлена сравнительная характеристика показателей вторичной токсичной аутоагрессии в зависимости от типа осложнений и степени токсикоза у больных пневмонией младенцев.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пневмония, диеновые конъюгаты, активный тиобарбитуровый продукт, каталаза, молекулы средней массы.

## COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF SECONDARY TOXIC AUTOAGGRESSION PARAMETERS AT INFANTS WITH COMPLICATED CURRENT OF PNEUMONIA

A.O. Klymenko, L.M. Senjuta, O.L. Tsymbalista  
IVANO-FRANKIVSK STATE MEDICAL ACADEMY

## Summary

*Pneumonia occupies one of the first places among the reasons of children death rate. Severity of a course and the adverse forecast are determined by endotoxycosis and hypoxia which result in the development of secondary toxic autoaggression. The comparative characteristics of secondary toxic autoaggression parameters depending on a type of complications and a toxicosis degree in infants with pneumonia are submitted in the article.*

KEY WORDS: pneumonia, dien konjugates, active thiobarbiture product, katalase, molecules of average weight.

Адреса для листування: А.О. Клименко, Івано-Франківська державна медична академія, вул. Галицька, 2, Івано-Франківськ, 76000, Україна.

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

## ЗАЛЕЖНІСТЬ МЕТАБОЛІЧНИХ ЗМІН У ТКАНИНАХ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ВІД СТРЕСОСТІЙКОСТІ ЩУРІВ

Л.М. Тарасенко, К.С. Непорада

УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ, ПОЛТАВА

*Обґрунтовано, що слинні залози є високочутливим до гострого стресу об'єктом. Ступінь стресорної активації протеолізу і розпаду біополімерів у тканинах слинних залоз та слизовому гелі шлунка залежить від типу реагування тварин.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **слинні залози, шлунок, стресостійкість.**

**ВСТУП.** Слинні залози високо чутливі до дії фізіологічних і патогенних чинників [11]. Інтерес дослідників до вивчення закономірностей реакції слинних залоз на різні подразники останнім часом значно підвищився, що зумовлено діагностичним значенням слини як високоінформативного об'єкта для клінічної оцінки стану цілісного організму.

З метою з'ясування питання про взаємозв'язок метаболічних змін у слинних залозах з іншими відділами системи травлення ми вивчали вплив гострого стресу на ушкодження клітин у них залежно від типу реагування тварин.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Експерименти проведено на 85 щурах-самцях лінії Вістар масою 140-220 г з дотриманням рекомендацій щодо виконання медико-біологічних досліджень згідно з Європейською конвенцією [7]. Тварин утримували на звичайному раціоні віварію. Їх евтаназію здійснювали під гексеналовим наркозом (50 мг/кг маси тіла внутрішньочеревно) шляхом кровопускання. Гострий емоційно-больовий стрес (ЕБС) моделювали за О. Desiderato et al. (1974) [14]. Індивідуально-типологічні особливості поведінки тварин і прогностичну оцінку їх стресостійкості визначали на підставі нейро-етологічного тесту "відкрите поле" і факторно-аналітичного методу [6]. Щурів поділяли на стресостійких, помірно стійких та нестійких до стресу. Контролем до кожної групи були тварини відповідного типу реагування.

У тканинах піднижньощелепних слинних залоз і слизовій оболонці шлунка (СОШ) визначали загальну протеолітичну активність [12], © Л.М. Тарасенко – д.мед.н., проф., К.С. Непорада, 2004.

активність  $\alpha_1$ -протеїназного інгібітора ( $\alpha_1$ -ПІ) [3], вміст ацетилнейрамінової кислоти [4], фукози [1] та гексуранових кислот [13]. Результати досліджень аналізували з використанням методу варіаційної статистики.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Нами встановлено, що гострий ЕБС викликає розвиток виразок шлунка у 100 % стресонестійких тварин, а у стресостійких – лише у 45,2 % щурів.

Гострий стрес сприяє достовірному підвищенню вмісту фукози, ацетилнейрамінової кислоти і гексуранових кислот у СОШ (табл. 1). Деградація біополімерів шлункового слизу послаблює його захисну функцію і резистентність слизового бар'єру до дії агресивних факторів [5]. Ступінь деполімеризувального впливу гострого ЕБС на біополімери СОШ залежить від типу реагування тварин. Підсилення катаболізму біополімерів СОШ за умов гострого стресу найбільш виражене у щурів стресонестійкого типу порівняно з іншими типами реагування.

Нами встановлено, що в тканинах слинних залоз при гострому ЕБС спостерігається підвищення загальної протеолітичної активності з одночасним зниженням активності  $\alpha_1$ -ПІ, а також підсилення деполімеризації сіалопротеїнів (табл. 2).

Ці зміни найбільш виражені у щурів нестійкого типу реагування порівняно з іншими типами. Отже, метаболічні зміни в тканинах шлунка і слинних залоз при гострому стресі відзначаються однотипним характером.

Стресорні виразки шлунка є обов'язковим компонентом стрес-синдрому [9]. За умов гострого стресу суттєві метаболічні зміни в

обох відділах системи травлення свідчать про паралелізм і спільність механізмів розвитку ушкоджень клітин слинних залоз і СОШ.

Раніше нами одержані дані про гальмування активності  $\alpha$ -амілази слини у людей під впливом психоемоційного напруження [2]. Активність  $\alpha$ -амілази характеризує білоксинтетичну функцію слинних залоз. У статевонезрілих щурів обох статей з підвищеним рівнем тривожності достовірно збільшується в 1,3-1,6 рази вміст фукози в слині порівняно з контрольною групою [8]. Ушкодження сполучнотканинних структур організму при пізніх гестозах супроводжується підвищенням екскреції із слиною ацетилнейрамінової кислоти, яка чітко корелює з тяжкістю захворювання [10]. Наведені дані дозволяють стверджувати, що слинні залози є

високочутливим індикатором емоційного напруження, яке характеризується спільними рисами ушкодження із СОШ.

Наявність залежності тяжкості стресорних ушкоджень від типу реагування дає підстави використовувати метаболічні показники слинних залоз і слини для типування індивідуальної стресостійкості організму.

**ВИСНОВКИ.** 1. Гострий стрес супроводжується підсиленням протеолізу та розпаду біополімерів тканин слинних залоз.

2. Ступінь ушкодження клітин слинних залоз тісно пов'язаний з типом реагування тварин.

3. Слинні залози і слина – адекватний об'єкт дослідження стресостійкості організму.

Таблиця 1 – Вміст гексуронових кислот (ГК), фукози та N-ацетилнейрамінової кислоти (NANA) у СОШ при гострому стресі у щурів з різною стресостійкістю

Групи тварин	Типи		
	стресонестійкі	помірно стійкі	Стресостійкі
1. Контроль			
ГК, мкмоль/г	7,4±0,8 (7)	7,2±0,6 (7)	6,9±0,7 (8)
фукоза, мкмоль/г	4,35 ± 0,54 (9)	3,98 ± 0,35 (8)	4,02 ± 0,53 (8)
NANA, мкмоль/г	3,6±0,4 (8)	3,8±0,3 (8)	2,9±0,5 (8)
2. Гострий стрес			
ГК, мкмоль/г	12,5±0,9* (8)	8,5±0,6 (7)	9,5±0,8 (8)
фукоза, мкмоль/г	8,23 ± 0,46* (8)	4,89 ± 0,23 (8)	4,68 ± 0,46 (9)
NANA, мкмоль/г	9,5 ± 0,3* (9)	5,2±0,4 (8)	4,9±0,3 (7)

Примітка: Тут і далі у дужках вказано кількість тварин; \* –  $P_{1-2} < 0,05$ .

Таблиця 2 – Активність протеїназ та  $\alpha_1$ -ІП, вміст N-ацетилнейрамінової кислоти (NANA) слинних залоз при гострому стресі у щурів з різною стресостійкістю

Групи тварин	Типи		
	стресонестійкі	помірно стійкі	стресостійкі
1. Контроль			
Загальна протеолітична активність, мкмоль/г/хв	4,06±0,26 (9)	4,68±0,46 (8)	4,35±0,32 (8)
$\alpha_1$ -ІП, г/кг	29,8±1,5 (9)	27,3±2,1 (8)	30,4±3,5 (8)
NANA, мкмоль/г	2,4±0,3 (9)	2,9±0,6 (9)	2,5±0,7 (8)
2. Гострий стрес			
Загальна протеолітична активність, мкмоль/г/хв	4,95±0,25* (8)	4,08±0,56 (8)	4,28±0,32 (9)
$\alpha_1$ -ІП, г/кг	15,2±1,9* (8)	25,8±2,8 (8)	28,5±1,5 (9)
NANA, мкмоль/г	5,7±0,3* (9)	3,6±0,4 (8)	3,8±0,9 (9)

#### ЛІТЕРАТУРА

- Архипова О.Г. Методы в профпатологии. – М.: Медицина, 1988. – 208 с.
- Борисенко Ю.В. Стресорна реакція слинних залоз та її корекція: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Полтава, 1993. – 18 с.
- Веремеенко К.Н., Голобородько О.П., Кизим А.Н. Протеолиз в норме и при патологии. – К.: Здоров'я, 1988. – 200 с.
- Колб В.Г., Камышников В.С. Клиническая биохимия. – Минск: Беларусь, 1976. – 303 с.
- Лазарев П.И. Слизь пищеварительного тракта // Вестник АМН СССР. – 1989. – № 7. – С. 82-89.
- Майоров О.Ю. Нейродинамическая структура системных механизмов устойчивости к эмоциональному стрессу: Автореф. дис. ... д-ра. мед. наук. – М., 1988. – 45 с.



7. Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных // Ланималогия. – 1993. – № 1. – С. 29-30.

8. Петрушанко Т.О. Інтегральний індивідуальний підхід у профілактиці захворювань пародонта: Автореф. дис. ... д-ра. мед. наук. – К., 2001. – 39 с.

9. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. – М.: Медгиз, 1960. – 254 с.

10. Тарасенко К.В. Клініко-патогенетичне значення сполучної тканини при пізніх гестозах: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Харків, 1999. – 20 с.

11. Л.М. Тарасенко, Г.А. Суханова, В.П. Ми-

щенко, К.С. Непорада. Слюнные железы. Биохимия, физиология, клинические аспекты- Томск: Изд-во НТЛ, 2002. – 124 с.

12. Уголев А.М., Иезуитова Н.Н., Масевич У.Г. Исследования пищеварительного аппарата у человека. – Л.: Наука, 1969. – 216 с.

13. Шараев П.П. Определение олигобиополимеризованных сиаловых кислот в сыворотке крови // Лаб. дело. – 1990. – № 11. – С. 38-41.

14. Desiderato O., MacKinnon J., Nisson N. Development of gastric ulcers in rats following stress termination // J. Comp. Physiol. and Psychol. – 1974. – **87**, № 4. – P. 208-214.

## ЗАВИСИМОСТЬ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ТКАНЯХ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ ОТ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ КРЫС

**Л.М. Тарасенко, К.С. Непорада**

УКРАИНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ, ПОЛТАВА

### Резюме

*Доказано, что слюнные железы являются высокочувствительным к действию острого стресса объектом. Степень стрессорной активации протеолиза и распада биополимеров в тканях слюнных желез и слизистом геле желудка зависит от типа реагирования животных.*

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **слюнные железы, желудок, стрессоустойчивость.**

## DEPENDENCE OF METABOLIC CHANGES IN TISSUES OF SALIVARY GLANDS IN STRESS RESISTANT RATS

**L.M. Tarasenko, K.S. Noporada**

UKRAINIAN MEDICAL STOMATOLOGICAL ACADEMY, POLTAVA

### Summary

*It has been proved that salivary glands are highly sensitive to the acute stress. The level of the proteolysis stress activation and biopolymers decay in salivary gland tissues and mucous gel of the stomach depends on the animal reaction type.*

KEY WORDS: **salivary glands, stomach, stress resistance.**

Адреса для листування: Л.М. Тарасенко, Українська медична стоматологічна академія, вул. Шевченка, 23, Полтава, 36024, Україна.

## СПІВВІДНОШЕННЯ АКТИВНОСТІ СИСТЕМ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ТА ПРОЦЕСІВ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ У ЩУРІВ ЗА УМОВ АДАПТАЦІЇ ДО ГІПОКСІЇ В ІНТЕРВАЛЬНОМУ РЕЖИМІ

Л.І. Кобилинська, О.І. Терлецька, М.Р. Гжегоцький  
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

*Аналіз змін біохімічних параметрів крові та тканин печінки, серця та мозку білих щурів за умов інтервальної гіпокситерапії (ІГТ) дозволяє стверджувати, що повний курс ІГТ лімітує нагромадження продуктів ліпопероксидації шляхом підвищення потужності системи антиоксидантного захисту низькорезистентних до гіпоксії тварин. Метаболічні механізми формування адаптативно-компенсаторних процесів організму до умов ІГТ відрізняються у досліджуваних тканинах залежно від типу обмінних процесів при однаковій векторній спрямованості змін системи "перекисне окиснення ліпідів – антиоксидантний захист".*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** адаптація, гіпоксія, інтервальне гіпоксичне тренування, антиоксидантна система, перекисне окиснення ліпідів, низькорезистентні щури, баланс системи "ліпопероксидація – антиоксидантний захист".

ВСТУП. Метод інтервального гіпоксичного тренування як біостимулятор обмінних процесів на сьогодні знайшов широке застосування у медичній практиці з метою підвищення адаптаційного потенціалу організму та ефективного лікування різних захворювань [3, 4, 12, 16]. У його основі лежить поступовий приріст гіпоксичної резистентності в результаті тренування фізіологічних механізмів компенсації до гіпоксії [9, 15]. Тренування організму до гіпоксії підвищує неспецифічну резистентність і супроводжується численними адаптивними змінами [4, 9, 11, 13, 15, 18]. Проте сутність його в адаптації до гіпоксії ще до кінця не вивчено. Підвищення ефективності застосування методу значною мірою залежить від відбору найбільш об'єктивних критеріїв, які б дали змогу контролювати перебіг компенсаторних процесів і визначати оптимальні режими гіпоксичного тренування [3, 11]. Велика роль відводиться параметрам кисеньзалежного метаболізму, зокрема системі вільнорадикального пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та його зрівноваження з системою антиоксидантного захисту (АОЗ) [1, 5, 14].

Чутливість до нестачі кисню різних органів у значній мірі зумовлена типом метаболізму і специфікою енергозабезпечення, яке у тканині мозку та серця є переважно аеробним [12, 15, 17]. Високий рівень аеробного метаболізму досліджуваних тканин обумовлює їх підвищену чутливість до змін кисневого постачання. Відо-

мо, що гіпербарична гіпоксія та особливо ре-оксигенація можуть індукувати вільнорадикальні перетворення, які в своїй основі можуть мати уражуючий ефект [1,9,17,18].

Тому метою даного дослідження було вивчення впливу інтервального гіпоксичного тренування на процеси пероксидного окиснення ліпідів та систему антиоксидантного захисту у крові та різних органах низькорезистентних до гіпоксії білих щурів. Для дослідження були обрані печінка, серце та мозок, які відрізняються за типом метаболічних процесів відповідно до характеру функціональної активності.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. ІГТ проводили в барокамері в режимі: десятихвилинна гіпоксія, яка відповідала умовній висоті 6000 м, перерва – 30 хвилин, швидкість "підйому на висоту" – 20 м/с, 5 сеансів на день протягом 10 діб. Вивчали стан системи ПОЛ за концентрацією первинних (дієнові кон'югати (КД)) і ТБК-активних (малоновый діальдегід (МДА)) продуктів у сироватці крові та тканинах печінки, серця і мозку інтактних низькорезистентних до гіпоксії щурів. Стан АОЗ організму оцінювали за активністю основних ферментів-антиоксидантів – супероксиддисмутази (СОД), глутатіонпероксидази (ГПО) і каталази (КАТ), а також загальною антиоксидантною активністю (ІАОА) у сироватці крові та тканинах печінки, серця і мозку інтактних низькорезистентних тварин [2,6,7,8,11,13]. Дослідження провадили до і після курсу ІГТ. Отримані величини параметрів

© Л.І. Кобилинська – к.мед.н., О.І. Терлецька – к.біол.н., М.Р. Гжегоцький – д.мед.н., проф., 2004.

ПОЛ і АОЗ використовували для обчислення коефіцієнтів за формулами:

$$K_1 = \text{СОД} / \text{МДА}, K_2 = \text{КАТ} \times \text{СОД} / \text{МДА},$$

$$K_3 = \frac{I_{\text{АОА-ІГТ}}/I_{\text{АОА-К}} \times \text{КАТ}_{\text{ІГТ}}/\text{КАТ}_{\text{К}} \times \text{СОД}_{\text{ІГТ}}/\text{СОД}_{\text{К}} \times \text{ГПО}_{\text{ІГТ}}/\text{ГПО}_{\text{К}}}{\text{МДА}_{\text{ІГТ}}/\text{МДА}_{\text{К}} \times \text{КД}_{\text{ІГТ}}/\text{КД}_{\text{К}}}$$

де показники з індексом ІГТ відповідають дослідній групі тварин, а показники з індексом К – контрольній.

Використання цих інтегральних коефіцієнтів дозволяє одночасно оцінити стан як процесів ПОЛ, так і АОЗ, а також виявити ступінь дисбалансу в системі "ПОЛ–АОЗ" [1, 5]. Ці коефіцієнти було введено з метою об'єктивної оцінки співвідношення про- та антиокисних перетворень. При збереженні балансу в системі "ПОЛ–АОЗ" коефіцієнт  $K_3$  дорівнює рівній 1, при переважанні процесів ПОЛ його значення зростає, при підвищенні потужності системи АОЗ – зменшується.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У ході експериментальних досліджень було виявлено, що ІГТ щурів супроводжується вираженими статистично достовірними змінами параметрів прооксидантно-антиоксидантної системи досліджуваних тканин. Комплексне дослідження процесів ПОЛ і АОЗ у крові тренуваних щурів показало збільшення на 45 % і 99 %, відповідно, величин коефіцієнтів  $K_1$  та  $K_2$ . Виявлене високе значення  $K_3$  ( $K_3=4,21 \pm 0,06$ ) у крові тренуваних тварин свідчить про збільшення антиоксидантного потенціалу організму, що виявляється у позитивному балансі системи "ПОЛ – АОЗ" і доводить позитивний вплив ІГТ на організм НР щурів. Аналіз результатів біохімічних змін у системі "ПОЛ – АОЗ" виявив характерні для кожної з тканин типи реагування на ІГТ організму. Так, підвищення коефіцієнта  $K_1$  на 14 % відбувається у тканинах печінки і мозку та на 12 % у тканині серця. Значення коефіцієнта  $K_2$  зростає на 45 % у печінці та на 6 % у тканині серця. У гомогенаті мозку  $K_2$  знижується на 18 %, що пов'язане зі значним підвищенням концентрації дієнових кон'югатів. Визначення

величини інтегрального коефіцієнта  $K_3$  показало підвищення його у тканині печінки ( $K_3=2,06 \pm 0,04$ ) та серця ( $K_3=3,19 \pm 0,09$ ), а також зниження відносно одиниці у гомогенаті мозку ( $K_3=0,78 \pm 0,02$ ). Це можна обґрунтувати існуванням різних типів метаболічних процесів у досліджуваних тканинах, пов'язано з їх фізіологічним функціонуванням в умовах організму, а також чутливістю тканини мозку до екстремальних гіпоксичних впливів [1, 9, 13, 17, 18].

**ВИСНОВКИ.** Аналіз змін біохімічних параметрів крові та тканин печінки, серця та мозку щурів за умов ІГТ дозволяє стверджувати, що даний курс ІГТ лімітує нагромадження продуктів ПОЛ шляхом підвищення потужності системи АОЗ низькорезистентних до гіпоксії тварин [1,4,12]. У результаті тренування формується метаболічна відповідь за рахунок природних процесів саморегуляції прооксидантно-антиоксидантної системи [1,5]. Зміни досліджуваних показників у крові та тканинах печінки, серця і мозку експериментальних тварин, які виявлені після ІГТ, свідчать про перебудову киснезалежного обміну на режим функціонування організму, відповідний адаптації до гіпоксії в інтервальному режимі. Проте метаболічні механізми формування адаптативно-компенсаторних процесів організму до умов ІГТ відрізняються у досліджуваних тканинах в залежності від типу обмінних процесів, при однаковій векторній спрямованості змін системи "ПОЛ – іАОЗ".

Таким чином, чергування короткочасних періодів гіпоксії та реоксигенації при ІГТ є тригерним механізмом для ініціювання захисних систем клітини, зокрема системи АОЗ [5, 9, 10]. В основі цього процесу лежить механізм підтримання в клітині певного співвідношення прооксидантних та антиоксидантних систем, що є показником її стану *in vivo* і відображає індивідуальний тип метаболічних процесів як прояв неспецифічного адаптаційного резерву [1, 5, 9, 15].

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и при патологии. – К., 1997. – ч. 1,2, 422 с.
2. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. Дело. – 1983. – № 3. – С. 33-35.
3. Интервальная гипоксическая тренировка: эффективность, механизмы действия / Под ред. А.З. Колчинской. – К: ГИФК – ЭЛТА, 1992. – 159 с.
4. Караш Ю.М., Стрелков Р.Б., Чижов А.Я. Нор-

мобарическая гипоксия в лечении, профилактике и реабилитации. – М.: Медицина, 1988. – 352с.

5. Кобилінська Л.І., Тимочко М.Ф. Роль прооксидантно-антиоксидантного балансу в адаптаційних процесах організму / Експерим. та клін. фізіологія і біохімія. – 2000. – № 4. – С. 52-58.

6. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.

7. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на ре-

акции окисления кверцетина // Вопр. мед. химии. – 1990. – № 2. – С. 88-91.

8. Мартынюк В.Б., Ковальчук С.М., Тимочко М.Ф. и др. Индекс антиокислительной активности биологического материала // Лаб. дело. – 1991. – № 3. – С. 19-22.

9. Меерсон Ф.З. Адаптационная медицина: механизмы и защитные эффекты адаптации. – М., 1993. – 331 с.

10. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело. – 1986. – № 6. – С. 724-727.

11. Стрелков Р. Б., Чижов А. Я. Прерывистая нормобарическая гипоксия в профилактике, лечении и реабилитации. – Екатеринбург, 2001. – 399 с.

12. 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.

13. М.Ф.Тимочко, О.П.Єлісеєва, Л.І.Кобилінська, І.Ф.Тимочко Метаболічні аспекти формування

кисневого гомеостазу в екстремальних станах. / Львів, 1998. – 141 с.

14. Bailey D.M., Davies B., Baker J. Training in hypoxia: modulation of metabolic and cardiovascular risk factors in men // Med. Sci. Sports Exerc. – 2000. – **32**, № 6. – P. 1058-1066.

15. Clanton T.L., Klawitter P.F. Invited review: Adaptive responses of skeletal muscle to intermittent hypoxia: the known and the unknown // J. Appl. Physiol. – 2001. – 90 (6). – P. 2476-2487.

16. Auswirkungen eines Kraftausdauertrainings in normobarer Hypoxie auf Muskelquerschnitt, Kraftausdauer und Maximalkraft. / Friedmann B., Borisch S., Kucera K. et al. // Dtsch. Z. Sportmed. – 2001. – **52**. – P.36.

17. Garcia N., Hopkins S.P., Powell F.L. Effects of intermittent hypoxia on the isocapnic hypoxic ventilatory response and erythropoiesis in humans // Respir. Physiol. – 2000. – **123** (1-2). – P.39-49.

18. Moss I.R. Respiratory responses to single and episodic hypoxia during development: mechanism of adaptation // Respir. Physiol. – 2000. – **121**, № 2-3. – P. 185-197.

## СООТНОШЕНИЕ АКТИВНОСТИ СИСТЕМ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ И ПРОЦЕССОВ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ У КРЫС ПРИ АДАПТАЦИИ К ГИПОКСИИ В ИНТЕРВАЛЬНОМ РЕЖИМЕ

Л.И. Кобылинская, О.И. Терлецкая, М.Р. Гжегоцкий  
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

### Резюме

Анализ изменений биохимических параметров крови и тканей печени, сердца и мозга белых крыс в условиях интервальной гипокситерапии (ИГТ) позволяет утверждать, что полный курс ИГТ лимитирует накопление продуктов липопероксидации путем повышения мощности системы антиоксидантной защиты низкорезистентных к гипоксии животных. Метаболические механизмы формирования адаптивно-компенсаторных процессов организма к условиям ИГТ отличаются в исследованных тканях в зависимости от типа обменных процессов, при одинаковой направленности изменений системы "перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита".

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: адаптация, гипоксия, интервальная гипоксическая тренировка, антиоксидантная система, перекисное окисление липидов, низкорезистентные крысы, баланс системы "липидпероксидация – антиоксидантная защита".

## CORRELATION BETWEEN THE ACTIVITY OF ANTIOXIDANT DEFENCE AND LIPID PEROXIDATION SYSTEMS IN RATS AT ADAPTATION TO HYPOXIA IN INTERVAL REGIME

L.I. Kobylinska, O.I. Terletska, M.R. Gzhegotsky  
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY, LVIV

### Summary

Analysis of changes of biochemical parameters of blood, liver, heart and brain tissues of white rats under conditions of interval hypoxic therapy (IHT) allows to prove that a complete IHT course inhibits the accumulation of lipid peroxidation products by increasing of antioxidant defence system potential of low-resistance to hypoxia animals. Metabolic mechanisms of formation of adaptive – compensatory processes in the organism to IHT conditions differ in investigated tissues in dependence on the type of metabolic processes, while direction of changes in the system "lipid peroxidation – antioxidant defence" is the same.

KEY WORDS: adaptation, hypoxia, interval hypoxic training, antioxidant defense system, lipid peroxidation, low-resistant rats, balance "lipid peroxidation – antioxidant defence" system.

Адреса для листування: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра біологічної хімії, вул. Пекарська 69а, Львів, 79010, Україна.

## ПОКАЗНИКИ БІОЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ КЛІТИН ІНТАКТНИХ ТВАРИН ПРИ ВВЕДЕННІ ПОПЕРЕДНИКІВ І МЕДІАТОРІВ БІОСИНТЕЗУ УБІХІНОНУ

О.Б. Кучменко, Д.М. Петухов, Г.В. Донченко  
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ

*У роботі показано можливість підвищення концентрації убіхінону в печінці та покращення ефективності функціонування убіхінонзалежних ферментних систем ланцюга транспорту електронів мітохондрій у інтактних тварин шляхом введення попередників і медіаторів біосинтезу даного препарату.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** убіхінон, попередники і медіатори біосинтезу убіхінону, убіхінонзалежні ферментні системи.

**ВСТУП.** Убіхінони (CoQ) є 2,3-диметокси-5-метил-1-4-бензохінонами з поліізопреноїдним бічним ланцюгом у 6-му положенні. Для вищих рослин та вищих тварин (зокрема, ссавців) характерним є CoQ<sub>10</sub>. Реакції CoQ з ферментними системами є основними лімітуючими за часом у ланцюзі транспорту електронів (ЛТЕ), критичним для нормального функціонування мітохондрій та клітини в цілому є наявність у внутрішній мітохондріальній мембрані достатнього функціонально активного пулу CoQ [1,4]. Внутрішньоклітинний пул CoQ поповнюється за рахунок як ендогенного синтезу, так і надходження ззовні. Показано, що біосинтез хінонового кільця відбувається через утворення параоксibenзойної кислоти (ПОБК) [7]. Було продемонстровано, що вітамін Е значно активізує біосинтез CoQ в тканинах піддослідних тварин. Показано, що за різних станів (стресові ситуації, похилий вік, різноманітні хвороби тощо.) біосинтез CoQ в організмі людини та тварин порушується, тому існує потреба в пошуку шляхів підвищення забезпеченості організму людини CoQ [5, 8]. Отже, метою даної роботи було дослідження впливу на біосинтез CoQ та функціонування CoQ-залежних ферментних систем ЛТЕ мітохондрій попередників і медіаторів біосинтезу CoQ.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Матеріалом для дослідження слугували білі лабораторні щурисамці масою 150-190 г, які отримували повноцінний стандартний раціон віварію.

© О.Б. Кучменко, Д.М. Петухов, Г.В. Донченко, 2004.

Було вивчено такі біологічно активні сполуки (БАС), які можуть бути потенційними активаторами ендогенного синтезу CoQ та впливати на його функціонування в ЛТЕ мітохондрій: ПОБК, метіонін, фолієву, пантотенову й аскорбінову кислоти. Дію всіх цих сполук (БАС) та їх комплексів перевіряли на фоні введення вітаміну Е (α-токоферилацетату фармакопейного) – відомого регулятора біосинтезу CoQ [1].

Тварин було поділено на шість груп:

- контроль (інтактні тварини, які отримували перорально воду та оливкову олію);
- тварини отримували олійний розчин вітаміну Е разом із водним розчином ПОБК (група ЕП);
- тварини отримували олійний розчин вітаміну Е разом із водними розчинами ПОБК і метіоніну (група ЕПМ);
- тварини отримували олійний розчин вітаміну Е разом із водними розчинами ПОБК, метіоніну і фолієвої кислоти (група ЕПМФ);
- тварини отримували олійний розчин вітаміну Е разом із водними розчинами ПОБК, метіоніну, фолієвої кислоти і пантотенової кислоти (група ЕПМФПк);
- тварини отримували олійний розчин вітаміну Е разом із водними розчинами ПОБК, метіоніну, фолієвої кислоти, пантотенової та аскорбінової кислоти (група ЕПМФПкА).

Вказані препарати вводили кожної доби перорально одноразово за допомогою зонду протягом 10 днів. Обирали такі їх дози: вітамін Е – 10 мг/кг живої маси, ПОБК – 50 мг/кг,



метіонін – 150 мг/кг, фолієва кислота – 70 мг/кг, пантотенова кислота – 10 мг/кг, аскорбінова кислота – 10 мг/кг.

Через 18 годин після останнього введення щурів забивали шляхом декапітації з дотриманням вимог міжнародних конвенцій щодо гуманного поводження із тваринами в умовах лабораторних досліджень. Забирали тканину печінки (одну й ту саму частку), промивали в охолодженому розчині буфера (0,25 М розчин сахарози на 0,05 М трис(гідроксиметил)амінометані (рН =7,36)), з додаванням 0,001 М етилендіамінтетраацетату (ЕДТА)). Мітохондрії виділяли методом диференційного ультрацентрифугування [10].

Вміст СоQ та токоферолу у гомогенаті визначали за методом [2]. Вміст білка в гомогенатах і препаратах мітохондрій визначали за методом Лоурі [5]. Активність сукцинат-СоQ-редуктази (CQR) та NADH-СоQ-редуктази (HQR) визначали за методом Зіглера [8] та Тарасової [10] відповідно. Активність обох ферментативних систем визначали як без додавання, так і після внесення в систему СоQ<sub>1</sub>: перша позначена як А<sub>1</sub> – активність CQR або HQR в пробах, друга як А<sub>2</sub> – активність тієї ж ферментативної системи після додавання до реакційної суміші Q<sub>1</sub>. Статистичну обробку

результатів досліджень проводили методами варіаційної статистики. Достовірність різниці двох середніх величин оцінювали за критерієм Стьюдента ( $t$ ).

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати визначення вмісту СоQ в гомогенатах і мітохондріях печінки дослідних тварин подано в таблиці 1.

Показано, що введення інтактним тваринам розчину вітаміну Е разом з іншими попередниками і медіаторами біосинтезу убіхінону призводить до зростання його вмісту в гомогенаті та мітохондріях печінки. При цьому найвищий рівень СоQ було відзначено в гомогенаті печінки щурів, які отримували комплекс ЕПМФПк, а в мітохондріях – у тварин, які одержували комплекси ЕПМ і ЕПМФПк. Вивчення активності убіхінонзалежних ферментних систем (табл. 2) показало, що найбільше зростання HQR-активності відбувалося у тварин, які отримували комплекс ЕПМ. Найвищу активність SQR спостерігали в мітохондріях печінки тварин, які одержували комплекси ЕП, ЕПМ і ЕПМФПкА. Відсутність зростання активності SQR в групі, яка отримувала комплекс ЕПМФПк, може свідчити про неоднозначну відповідь двох ферментних систем.

Таблиця 1 – Вміст СоQ в гомогенатах (гом) печінки та мітохондріях (мтх) печінки щурів (M±m, n=6)

Групи	СоQ в гом., мкг/г гом.	СоQ в гом., мкг/г білка	СоQ в мтх, мкг/г гом.	СоQ в мтх, мкг/г білка
Контроль	13,92±2,08	112,05±17,29	7,21±1,21	23,95±6,42
ЕП	17,55±2,55	141,93±27,09	11,52±3,03	29,35±7,59
ЕПМ	20,84±3,01*	176,27±32,20*	12,40±0,84*	34,29±5,61
ЕПМФ	20,34±1,89*	166,50±16,54*	7,85±1,27	25,16±3,46
ЕПМФПк	20,85±3,89*	196,63±43,86*	10,25±1,84*	33,64±4,15
ЕПМФПкА	15,61±2,68	131,06±17,39	7,85±2,28	36,44±19,82

Примітка. Тут і далі: \* – різниця достовірна порівняно з контролем (p < 0,05).

Таблиця 2 – Активність ферментів ланцюга транспорту електронів CQR та HQR в мітохондріях печінки щурів (мМ/мг білка за 1 хв, M±m, n=6)

Групи	Показники	HQR активність		CQR активність	
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>
Контроль		4,84±0,58	13,90±4,32	76,13±15,72	280,75±87,75
ЕП		4,08±1,25	12,18±3,98	142,30±18,04*	567,09±115,43*
ЕПМ		7,92±2,20	18,63±2,43	146,76±22,58*	517,94±55,59*
ЕПМФ		5,33±1,30	16,09±3,12	130,49±29,41*	354,89±76,28
ЕПМФПк		6,16±5,31	15,38±1,28	100,73±28,29	334,71±89,24
ЕПМФПкА		7,16±1,79	24,22*±4,72	17,40±31,62*	899,92±63,56*

**ВИСНОВКИ.** Одержані експериментальні результати свідчать про ефективність комплексів попередників та медіаторів біосинтезу убіхінону – а саме комплексів ЕПМ, ЕПМФПк, ЕПМФПкА – в підвищенні його вмісту в печінці

піддослідних тварин та у зростанні його функціональної активності як транспортера окисно-відновних еквівалентів у складі ланцюга транспорту електронів мітохондрій.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Донченко Г.В. Биохимия убихинона (Q).- К.: Наукова думка, 1980. – 240 с.
2. Донченко Г.В., Коваленко В.Н., Забарная. Действие производных а-токоферола на содержание природных хинонов в тканях витамин Е-недостаточных крыс // Биохимия.-1979. – **44**, № 5. – С. 923-930.
3. Тарасова Н.В., Иванова Г.И., Гололобов А.Д. Микробиология. – 1976. – **45**, № 3. – С. 400-405.
4. Crane F.L. Biochemical functions of coenzyme Q<sub>10</sub> // Journal of the American College of Nutrition.- 2001. – **20**, № 6. – P. 591-598.
5. Eaton S., Skinner R., Hale J.P. et al. Plasma coenzyme Q(10) in children and adolescents undergoing doxorubicin therapy // Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry. – 2000. – **302**, №1-2. – P. 1-9.
6. Lowry O.N., Rosebrough N.J., Farr A.L. et al. Protein measurement with the folin phenol reagent // Journal of Biological Chemistry. – 1951. – **193**, № 1. – P. 265-275.
7. Rudney H., Raman T.S. Biosynthesis of ubiquinones and vitamin K in microorganisms // Vitamins and Hormones. – 1966. – **24**. – P. 531-549.
8. Thomas S.R., Leichtweis S.B., Pettersson K. et al. Dietary cosupplementation with vitamin E and coenzyme Q(10) inhibits atherosclerosis in apolipoprotein E gene knockout mice // Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. – 2001. – **21**, № 4. – P. 585-593.
9. Ziegler D., Doeg K.A. Preparation and properties of succinate dehydrogenase-coenzyme Q reductase (complex II): Methods in Enzymology. – New York, 1967. – **10**. – P. 231-235.
10. Schneider V.C. Intracellular distribution of enzymes. III. The oxidation of ocranoic acid by rat liver fraction // J. Biol. Chem. – 1948. – **176**, № 2. – P. 259-262.

### ПОКАЗАТЕЛИ БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА КЛЕТОК ИНТАКТНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ВВЕДЕНИИ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ И МЕДИАТОРОВ БИОСИНТЕЗА УБИХИНОНА

**Е.Б. Кучменко, Д.Н. Петухов, Г.В. Донченко**  
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ ИМ. А.В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАИНЫ, КИЕВ.

#### Резюме

*В работе показана возможность повышения концентрации убихинона в печени и эффективности функционирования убихинонзависимых ферментных систем цепи транспорта электронов митохондрий у интактных животных путем введения предшественников и медиаторов биосинтеза данного препарата.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** убихинон, предшественники и медиаторы биосинтеза убихинона, убихинонзависимые ферментные системы.

### INDICES OF BIOENERGETIC METABOLISM OF CELLS OF INTACT ANIMALS UNDER EFFECT OF PRECURSORS AND MEDIATORS OF UBIQUINONE BIOSYNTHESIS

**O.B. Kuchmenko, D.M. Petukhov, H.V. Donchenko**  
INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY BY O.V. PALLADIN OF NAS OF UKRAINE, KYIV

#### Summary

*The possibilities of increase of ubiquinone concentration in liver and the effectiveness of functioning of ubiquinone-dependent enzyme systems of the chain of mitochondrial electrons transport at the intact animals under effect of precursors and mediators of biosynthesis of the given preparation is demonstrated in this article.*

**KEY WORDS:** ubiquinone, precursors and mediators of ubiquinone biosynthesis, ubiquinone-dependent enzyme systems.

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

## АКТИВНІСТЬ ГЛІКОЗИДАЗ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ТА МОЗКУ ЩУРІВ У ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНИЙ ПЕРІОД

Г.О. Ушакова, Н.В. Козубенко, Ю.Ю. Кобеляцький  
ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

*Застосовано дешевий та швидкий мікрометод визначення активності глікозидаз ( $\alpha$ -глюкозидази,  $\beta$ -галактозидази, N-ацетилглюкозамінідази) у сироватці крові та водорозчинній фракції білків з таламуса-гіпоталамуса в умовах післяопераційної гіпералгезії й впливу фармакологічних препаратів. Встановлено, що активність глікозидаз у сироватці крові й мозку щурів у післяопераційний період не змінюється при відсутності гострого запального процесу. Кетанов знижує питому активність глікозидаз у сироватці крові, не змінюючи активності цих ферментів у мозку. Застосування антагоніста НМДА-рецепторів МК-801 призводить до збільшення активності глікозидаз у таламусі-гіпоталамусі.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: глікозидази, мікрометод, післяопераційний біль.

**ВСТУП.** Тисячолітній досвід вивчення болю показав, що в удаваній простоті цього явища лежить феномен, заснований на чіткому анатомічному субстраті, який проявляється в різноманітних фізіологічних, біохімічних, психологічних реакціях організму [5]. Всяке оперативне втручання пов'язане з механічною травмою, активацією запальних процесів у місці травми й ризиком інфікування. Гідролітичні ферменти вивільняються з лізосом при їх руйнуванні або збільшенні проникності їх мембран. Це відбувається внаслідок якихось патологічних змін, наприклад, проникнення мікроорганізмів (інфекційних агентів), пошкодження тканин (руйнування клітин), а також через порушення нормальної генетичної програми клітини.

Під час дослідження центральних механізмів післяопераційного болю постає питання про контроль за наявністю або відсутністю інфекційного запалення. Загальновідома участь у даному процесі лізосомного апарату та його ферментів, зокрема глікозидаз [4]. З метою виключення гострого чи хронічного запального процесу в післяопераційний період було досліджено активність глікозидаз ( $\alpha$ -глюкозидази,  $\beta$ -галактозидази та N-ацетилглюкозамінідази) у сироватці крові та водорозчинній фракції білків з таламуса-гіпоталамуса щурів.

© Г.О. Ушакова, Н.В. Козубенко, Ю.Ю. Кобеляцький, 2004.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** В експерименті було використано 56 білих лабораторних щурів – самців масою 180-220 г з дотриманням етичних принципів експериментальних досліджень [7]. Тварини утримували в стандартних умовах із циклічністю доби: світло – 12 год, ніч – 12 год. Експериментальну модель післяопераційного болю було створено згідно з Т.Д. Brennan [1, 2]. Після анестезії ефіром на правій задній лапці щура, обробленій розчином йоду, проводили розріз шкіри, фасції й м'яза на плантарній частині підошви довжиною 1 см. Потім накладали два шовкових шви й рану повторно обробляли йодом і сумішшю антибіотиків. Тварин було поділено на 8 груп: 1-ша – контрольна; 2-га – оперована; 3-тя – введення глутамату (1 мг/кг маси тіла); 4-та – введення глутамату за 5 хв до операції; 5-та – введення МК-801 (0,5 мг/кг маси тіла); 6-та – введення МК-801 за 5 хв до операції; 7-ма – введення кетанова (0,5 мг/кг маси тіла); 8-ма – введення кетанова за 5 хв до операції. З метою фармакологічної корекції післяопераційного болю обрали глутамат (агоніст НМДА рецепторів), МК-801 (неконкурентний антагоніст НМДА-рецепторів) та нестероїдний протизапальний препарат "Кетанов". Декапітацію тварин здійснювали під швидким ефірним наркозом через 24 год після операції, в період найбільш вираженої гіпер-

алгезії згідно з результатами фізіологічних тестів. Для досліджень використовували мозок та сироватку крові щурів. Гомогенізацію таламуса-гіпоталамуса проводили в буфері, що містить 0,25 мМ трис-НСІ, 1 мМ ЕДТО, 0,2 мМ бета-меркаптоетанол, 0,2 мМ ФМСФ, 0,02 % NaN<sub>3</sub>, рН-7,4, у співвідношенні 1:10. У ході центрифугування при 50 000 g було отримано фракцію водорозчинних білків дослідної структури мозку. Всі біохімічні аналізи проводили з використанням високоочищених реагентів.

Активність ферментів визначали за допомогою субстратів 2-нітрофеніл-N-ацетил-β-глюкозамініду, 2-нітрофеніл-β-D-галактопіранозиду і 2-нітрофеніл-α-глюкопіранозиду (Sigma). Робочі розчини містили 2 мМ відповідний субстрат в оцтовому буфері (50 мМ, рН- 5,4). В ямки мікротитрувального планшета вносили по 20 мкл дослідного зразка, потім за допомогою багатоканального дозатора додавали по 200 мкл розчину субстрату. Для побудови калібрувального графіка використовували розчин нітрофенолу. Відразу проводили стартове вимірювання оптичної щільності на ридері Anthos 2010 при довжині хвилі 405 нм. Потім зразки інкубували у термостаті при температурі 25 °С. Подальші вимірювання оптичної щільності проводили через 20 хв й 1 і 15 год. Статистичну обробку даних здійснювали за t-критерієм Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** За відсутності гострого запального процесу питома активність глікозидаз у сироватці крові щурів не зазнала достовірних змін через 24 год. після операції під впливом вказаних факторів (табл. 1).

Уведення препарату "кетанов" у дозі 0,5 мг/кг маси тіла за 24 год не викликало достовірних змін активності лізосомних глікозидаз у водорозчинній фракції білків таламуса-/гіпоталамуса піддослідних щурів, однак така сама доза кетанова спричиняла вірогідне зниження питомої активності глікозидаз у сироватці крові тварин за 24 год його дії (табл. 1).

Відомо, що глікозидази беруть участь у відщепленні вуглеводних компонентів глікопротеїнів, гліколіпідів, мукополісахаридів, що, у свою чергу, впливає на параметри синаптичної щільності та швидкість передачі сигналу. Тому, з метою дослідження факторів, що беруть участь у центральних механізмах післяопераційного болю, ми визначили активність глікозидаз у водорозчинній фракції білків таламуса/гіпоталамуса також.

У поставленому експерименті було встановлено, що при наявності післяопераційної гіпералгезії, через 24 години після операції, ноцицептивна стимуляція не приводила до значних змін активності глікозидаз у водорозчинній фракції таламуса- з гіпоталамуса піддослідних щурів. Застосування неконкурентного антагоніста НМДА-рецепторів МК-801 зумовило значну активацію всіх досліджуваних глікозидаз. Так, активність α-глюкозидази у водорозчинній фракції таламуса-гіпоталамуса зросла на 55 %, β-галактозидази – на 93 %, N-ацетилглюкозамінідази – на 110 %. На фоні оперативного втручання введення препарату "МК-801" також викликало значні зміни активності глікозидаз у водорозчинній фракції білків досліджуваного відділу мозку щурів. Активність α-глюкозидази підвищилася на

Таблиця 1 – Питома активність ферментів у сироватці крові щурів через 24 год після операції (МО/мг ЗБ, n=7-8)

Групи щурів	α-глюкозидаза	β-галактозидаза	N-ацетил-глюкозамінідаза
Інтактні, неоперовані	9,25±1,50	8,68±1,20	8,97±1,36
Оперовані	9,03±1,91	9,12±2,33	11,80±3,02
Уведення глутамату – 1 мг/кг маси тіла, не оперовані	13,03±0,90	12,10±0,66	12,57±1,64
Уведення глутамату – 1 мг/кг маси тіла, оперовані	10,77±1,34	10,14±0,96	11,46±1,42
Уведення МК-801 – 0,5 мг/кг маси тіла, не оперовані	11,46±1,34	11,41±1,34	12,57±2,17
Уведення МК-801 – 0,5 мг/кг маси тіла, оперовані	11,69±2,09	10,68±1,90	12,29±2,00
Уведення кетанова – 0,5 мг/кг маси тіла, не оперовані	5,51±0,90 *	5,76±1,29 *	6,97±1,81*
Уведення кетанова – 0,5 мг/кг маси тіла, оперовані	10,51±1,48	9,89±1,95	10,91±2,36

Примітка. \* – p<0,05 порівняно з оперованими тваринами.

80 %,  $\beta$ -галактозидази – на 84 %, N-ацетил-глюкозамінідази – на 100 % порівняно з такою для групи інтактних, неоперованих щурів.

На жаль, на сьогодні функціональне навантаження глікозидаз у тканинах мозку досліджено недостатньо. Відомо, що зі зниженням їх активності пов'язані спадкові захворювання, об'єднані у групу мукополісахаридозів. Через руйнування лізосом та зменшення активності глікозидаз відбувається накопичення сульфатованих форм глікозаміногліканів у нервовій тканині [4].

Патогістологічні дослідження мозку таких хворих виявляють чисельні втрати нейронів у певних відділах мозку в тому числі в таламусі. Згідно з результатами електронної мікроскопії, загибель нейронів пов'язують з появою в них внутрішньоядерних та внутрішньоклітинних включень, тубулярних структур [6]. Встановлено також участь  $\alpha$ - та  $\beta$ -галактозидаз у мієліноліпідних взаємодіях та метаболізмі гліко- і ліпопротеїнів [3]. Виходячи з вищенаведеного, можна зробити припущення про активацію даних процесів у таламусі/гіпоталамусі щурів під впливом МК-801. Можливо також, що підвищена активність глікозидаз пов'язана з необхідністю додаткової модифікації вуглеводних залишків не НМДА глутаматних рецепторів,

тоді як НМДА – рецептори через блокування їх МК-801 не беруть участі у процесі нейротрансмісії. Застосування кетанова (у контрольній та оперованій групах щурів) призводило до збільшення концентрації загального білка в сироватці крові. У результаті цього на фоні підвищення активності глікозидаз показник питомої активності глікозидаз зберігався або знижувався. Припускається, що кетанов активує вивільнення лізосомних ферментів для пригнічення можливої запальної реакції.

Отже, контроль за наявністю/вісвітністю гострого запального процесу за рахунок операційного втручання (або інфекції) можна проводити за допомогою визначення активності лізосомних глікозидаз ( $\alpha$ -глюкозидази,  $\beta$ -галактозидази та N-ацетил-глюкозамінідази) мікрометодом у сироватці крові протягом післяопераційного періоду.

**ВИСНОВКИ.** 1. У післяопераційний період активність глікозидаз у сироватці крові не змінюється за умов відсутності гострого запального процесу.

2. МК-801 індукує активність глікозидаз у таламусі-гіпоталамусі.

3. Кетанов знижує питому активність глікозидаз у сироватці крові.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Кобеляцкий Ю.Ю., Йовенко И.А., Колмоец А.В. Адаптация новой экспериментальной модели послеоперационной боли // Біль, знеболювання та інтенсивна терапія. – 1998. – **2**, № 3. – P. 6-9.

2. Brennan T.J., Vandermeulen E.P., Gebhart G.F. Characterization of a rat model of incisional pain // Pain. – 1996. – **64**, № 3. – P. 493-521.

3. Gautam A.K., Sood P.P. Significance of glycosidases in myelin-lipid metabolism. I. Studies in diencephalons of fresh water turtle // J. Hirnforsch. – 1982. – **23**, № 3. – P. 295-300.

4. Hennig A.K., Levy B., Ogilvie J.M., et al. Intravitreal gene therapy reduces lysosomal storage in spe-

cific areas of the CNS in mucopolysaccharidosis VII mice // J. Neurosci. – 2003. – **23**, № 8. – P. 3302-3307.

5. Mao J., Price D.D., Mayer D.J. Mechanism of hyperalgesia and morphine tolerance: a current view of their possible interactions // Pain. – 1995. – **62**, № 3. – P. 259-274.

6. Oyanagi K., Ohama E., Miyashita K. et al. Galactosialidosis: neuropathological finding in a case of late-infantile type // Acta Neuropathol. – 1991. – **82**, № 5. – P. 331-339.

7. Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals // Pain. – 1983. – **16**, № 2 – P. 109-110.



## АКТИВНОСТЬ ГЛИКОЗИДАЗ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И МОЗГЕ КРЫС В ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫЙ ПЕРИОД

Г.А. Ушакова, Н.В. Козубенко, Ю.Ю. Кобеляцкий  
ДНЕПРОПЕТРОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ,  
ДНЕПРОПЕТРОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

### Резюме

Применен дешевый и быстрый микрометод определения активности гликозидаз ( $\alpha$ -гликозидазы,  $\beta$ -галактозидазы, N-ацетилглюкозаминидазы) в сыворотке крови и водорастворимой фракции белков из таламуса-гипоталамуса в условиях послеоперационной гипералгезии и влияния фармакологических препаратов. Установлено, что активность гликозидаз в сыворотке крови и мозге крыс в послеоперационный период не изменяется при отсутствии острого воспалительного процесса. Кетанов снижает удельную активность гликозидаз в сыворотке крови, не изменяя активности этих ферментов в мозге. Применение антагониста НМДА-рецепторов МК-801 приводит к увеличению активности в таламусе-гипоталамусе.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гликозидазы, микрометод, послеоперационная боль.

## GLYCOSIDASE ACTIVITY IN BLOOD SERUM AND BRAIN OF RATS DURING POSTOPERATIVE PERIOD

H.O. Ushakova, N.V. Kozubenko, Y.Y. Kobelyatsky  
DNIPROPETROVSK NATIONAL UNIVERSITY  
DNIPROPETROVSK STATE MEDICAL ACADEMY

### Summary

The activity of glycosidases ( $\alpha$ -glycosidase,  $\beta$ -galactosidase, N-acetylglucosaminidase) in the rat blood serum and water-soluble protein fraction from thalamus-hypothalamus in the conditions of postoperative hyperalgesia and under the effect of physiological preparations was measured by cheap and rapid micromethod. It was shown that glucosidase activity in rat blood serum and brain did not change during postoperative period, because the acute inflammation processes were not observed. Activity of enzymes in the thalamus-hypothalamus was not changed without preliminary pharmacology correction. Ketanov decreases the specific glucosidase activity in blood serum without change of this one in brain. Increase of glucosidase activity in thalamus-hypothalamus was induced by antagonist (MK-801) which is specific for NMDA-receptors.

KEY WORDS: glycosidase, micromethod, postoperative pain.

Адреса для листування: Г.О. Ушакова, Дніпропетровський національний університет, пров. Науковий, 13, Дніпропетровськ, 49050, Україна.

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

## АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ ГЛУТАТІОНОВОЇ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЛІМФОЦИТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ПРИ ДІЇ ПІРЕНЗЕПІНУ

**З.Д. Воробець, О.В. Кімакович**

*ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО*

*На пермеабілізованих лімфоцитах периферичної крові людини показано, що інгібітор  $M_1$ -холінергічних рецепторів пірензепін (гастроцепін) інгібує пероксидне окиснення ліпідів та активує ферменти антиоксидантного захисту – глутатіонпероксидазу та глутатіонредуктазу. Лімфоцити можуть бути моделлю для вивчення механізмів дії препаратів, які реалізують свої ефекти через мускаринові холінергічні рецептори.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** лімфоцити, пірензепін, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, малоновий діальдегід.

ВСТУП. При виразковій хворобі для зменшення шлункової секреції, хронічних панкреатитах широко використовують не тільки блокатори  $H_2$ -рецепторів [11], але й блокатори  $M_1$ -холінергічних рецепторів [16, 17, 19]. Одним з найбільш розповсюджених  $M_1$ -холінолітиків є пірензепін (гастроцепін). Відомо, що він блокує ацетилхолінові рецептори слизової оболонки шлунка і підшлункової залози, зменшує їх функціональну активність і створює функціональний спокій [2, 15, 16, 17, 19]. Є дані стосовно того, що пірензепін покращує мікроциркуляцію і кровопостачання підшлункової залози [5]. Щодо біохімічних механізмів дії, то їх певною мірою пов'язують з пероксидацією ліпідів та активністю супероксиддисмутази [5].

Пероксидація ліпідів – універсальний механізм ушкодження клітинних мембран за різних патологій [1]. У знешкодженні вторинних продуктів пероксидації головну роль відіграє глутатіонова антиоксидантна система як найбільш потужна [1].

Зараз відомо, що лімфоцити і нервові клітини можуть активно брати участь в індукції та регуляції стрес-реакцій організму шляхом синтезу та секреції різноманітних факторів [4]. Лімфоцити, панкреатити і клітини слизової оболонки шлунка здатні експресувати різні субтипи  $M$ -холінергічних рецепторів, зокрема  $M_1$  [10, 14]. Можна припустити, що механізм дії інгібіторів  $M_1$  – холінорецепторів у цих клітинах подібний.

Метою даної роботи було вивчення впливу пірензепіну на пероксидацію ліпідів та активність ферментів глутатіонової антиоксидантної

системи з використанням як моделі лімфоцитів периферичної крові.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** У досліджах використовували моноядерні лімфоцити периферичної крові людини, які виділяли методом центрифугування в градієнті концентрації філол-урографіну ( $r=1,077$ ) з гепаринізованої свіжоотриманої крові клінічно здорових осіб віком 21-28 років. Підрахунок клітин здійснювали в камері Горяєва. Життєздатність лімфоцитів, яка в усіх досліджах складала не менше 95 %, оцінювали за забарвленням трипановим синім.

Для вивчення ферментативної активності лімфоцитарну суміш центрифугували 30 хв при 800 g та відбирали надосадову рідину, а лімфоцити ресуспендували у співвідношенні 1:1 у 0,9 % NaCl, що містив ЕДТА у концентрації 0,1 %. Для розкриття латентної глутатіонпероксидазної активності до суспензії лімфоцитів додавали 0,1 % сапонін, а для визначення глутатіонредуктазної – 0,2 % сапонін [3, 7, 8]. Вміст білка в суспензії лімфоцитів визначали за методом [12]. Глутатіонпероксидазну активність оцінювали за зменшенням вмісту відновленого глутатіону [6]. Глутатіонредуктазну активність визначали за зменшенням вмісту НАДФН [13]. Інтенсивність ПОЛ оцінювали за вмістом одного з прикінцевих метаболітів – малонового діальдегіду (МДА) [9]. Пірензепін у концентрації  $10^{-6}$ - $10^{-3}$  М додавали в середовище інкубації клітин. Як контроль використовували проби без пірензепіну.

Отримані результати досліджень статистично опрацьовували на комп'ютері зразка

IBM із застосуванням пакета комп'ютерних програм Microsoft Excel. Для оцінки рівня достовірності використовували критерій Стюдента. Зміни показників вважали вірогідними при  $P < 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Вплив різних концентрацій пірензепіну на активність ферментів глутатіонової антиоксидантної системи (глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази) і пероксидації ліпідів вивчали на ізольованих лімфоцитах периферичної крові людини, в яких ідентифіковані  $M_1$ -холінергічні рецептори [14, 18].

Встановлено, що вміст одного з кінцевих метаболітів ПОЛ – МДА із збільшенням концентрації пірензепіну знижується (рис. 1).

Ці дані узгоджуються з такими, отриманими при визначенні рівня МДА в крові хворих на хронічний панкреатит, яких протягом 30 днів лікували за допомогою пірензепіну [5].

У той час, як зі збільшенням концентрації пірензепіну вміст МДА в лімфоцитах зменшувався, активність глутатіонпероксидази зростала з  $(156 \pm 11)$  (контроль) до  $(189 \pm 12)$  нмоль Г-SH (хв·мг білка)<sup>-1</sup> (рис. 2).

Пірензепін призводив до зростання активності не тільки глутатіонпероксидази, але і до зростання активності супероксиддисмутази [5]. Так, у результаті лікування хворих на хро-

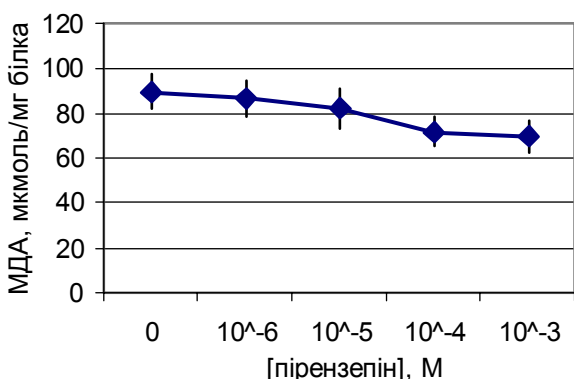


Рис. 1. Вплив пірензепіну на вміст МДА в лімфоцитах крові ( $M \pm m$ ,  $n=6$ ).

нічний панкреатит за допомогою пірензепіну, активність супероксиддисмутази в крові зростала у 2,5 раза [5].

Оскільки функціонування глутатіонпероксидази залежить від наявного пулу відновленого глутатіону, який забезпечується функціонуванням глутатіонредуктази, наступним етапом роботи було вивчення активності цього ферменту. Показано, що зі зростанням концентрацій пірензепіну в пробах від 0 до  $10^{-3}$  М глутатіонредуктазна активність лімфоцитів збільшувалась від  $(50 \pm 6)$  (контроль) до  $(77 \pm 8)$  нмоль (хв·мг білка)<sup>-1</sup>.

Таким чином, отримані результати показують, що ефект пірензепіну на лімфоцити периферичної крові зумовлений не тільки його зв'язуванням з  $M_1$ -холінергічними рецепторами [14, 18] і подальшою передачею сигналу через фосфатидилінозитидну систему, але і впливом на пероксидацію ліпідів і глутатіонову антиоксидантну систему.

**ВИСНОВКИ.** 1. Інгібітор  $M_1$ -холінергічних рецепторів пірензепін інгібує пероксидацію ліпідів та активує глутатіонову антиоксидантну систему лімфоцитів крові.

2. Лімфоцити периферичної крові можуть бути моделлю для вивчення механізмів дії препаратів, які реалізують свій ефект через мускаринові холінергічні рецептори.

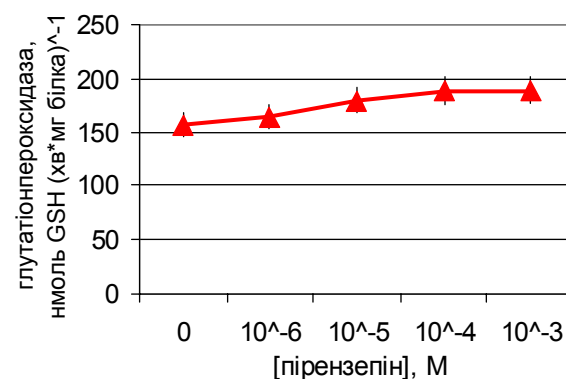


Рис. 2. Глутатіонпероксидазна активність лімфоцитів крові при дії пірензепіну ( $M \pm m$ ,  $n=6$ ).

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. – Киев: Чернобыльинтеринформ, 1997. – 205 с.
2. Бендиков Э.А., Логвинов А.С., Сильвестрова С.Ю. и др. Клиническая фармакокинетика гастроцепина, циметидина и ранитидина // Новые возможности в лечении гастроцепином: Материалы симпозиума. – М., 1985. – С. 7-22.
3. Воробець З.Д., Зіменковський А.Б., Підковка Н.О. Матвійчук О.Б. Глутатіонова антипероксидна система лімфоцитів крові та фібробластів лінії NIH-

3Т3 під впливом куріозину // Клін. фармація. – 2001. – **5**, № 3. – С. 50-52.

4. Давтян Т.К., Аванесян Л.А. О взаимоотношении иммунного и адаптивного ответов // Успехи совр. биол. – 2001. – **121**, № 3. – С. 275-286.

5. Дегтярьова І.І., Скотченко С.В., Осьодло С.В., Осьодло Г.В. Сучасний погляд на патогенетичне лікування хворих на гострі та різні форми хронічного панкреатиту // Збірник наукових праць співробітників КМАПО ім. П.Л. Шупика. – 2000. – В.9, кн. 4. – С. 510-517.

6. Моин В.М. Простой и специфичный метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело. – 1986. – № 12. – С.724-727.
7. Підковка Н.О., Воробець З.Д. Регуляторна роль іонів кальцію у функціонуванні глутатионової антиоксидантної системи лімфоцитів крові // Біологія тварин. – 2002. – Т. 4, № 1-2. – С. 115-120.
8. Підковка Н.О., Зіменковський А.Б., Кімакович О.В., Воробець З.Д. Фармакологічна активність квамателу та функціонування іонотранспортувальних систем у лімфоцитах крові // Практична медицина. – 2002. – Т.8, № 3. – С. 109-112.
9. Тимирбулатов С.А., Селезнев Е.И. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидосодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лаб. дело. – 1988. – № 4. -С. 209-211.
10. Bronzetti E., Adani O., Amenta F. et al. Muscarinic cholinergic receptor subtypes in human peripheral blood lymphocytes // Neurosci. Lett. – 1996. – **208**, № 3. – P. 211-215.
11. Kulkarni P.N., Barta Y.K., Wig J. Effects of different combinations of H<sub>2</sub> receptor antagonist with gastrokinetic drugs on gastric fluid pH and volume in children – a comparative study // Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. – 1997. – **35**, № 12. – P. 561-564.
12. Lowry O., Rosebrough W., Farr A., Randall R. Protein measure with the Folin phenol reagent // J.Biol. Chem. – 1951. – **193**, № 1. – P. 265-275.
13. Mannervik B. Glutathione peroxidase // Meth. in Enzym. – 1991. – **77**. – P. 490-495.
14. Nomura J., Hosoi T., Okuma Y., Nomura Y. The presence and functions of muscarinic receptors in human T cell: the involvement in IL-2 and IL-2 receptor system // Life Sci. – 2003. – **72**, № 18-19. – P. 2121-2126.
15. Omura N., Kashiwagi H., Gang C. et al. Effect of pirenzepine on gastric endocrine cell kinetics during lansoprazole administration // J. Gastroenterol. – 1988. – **33**, № 5. – P. 634-639.
16. Otsuki M., Okabayashi Y., Oka T. et al. Pirenzepine inhibits pancreatic exocrine secretion in the rats // Pancreas. – 1986. – V. 1, № 5. – P. 443-448.
17. Singer M.V., Teysen S., Kupperts U. Influence of the M<sub>1</sub>-receptor antagonists telezepine and pirenzepine on pancreatic secretory response to intraduodenal tryptophan in dogs // Digestion. – 1991. – **48**, № 1. – P. 34-42.
18. Tayebati S.K., Codini M., Gallai V. et al. Radioligand binding assay of M<sub>1</sub>-M<sub>5</sub> muscarinic cholinergic receptor subtypes in human peripheral blood lymphocytes // J. Neuroimmunol. – 1999. – **99**, № 2. – P. 224-229.
19. Teysen S., Niebergaall E., Chari S.T., Singer M.V. Comparison of two dose-response techniques to study the pancreatic secretory response to intraduodenal tryptophan the absence and presence of the M<sub>1</sub>-receptor antagonist telenzepine // Pancreas. – 1995. – **10**, № 4. – P. 368-373.

## АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ГЛУТАТИОНОВОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ПИРЕНЗЕПИНА

**З.Д. Воробец, О.В. Кімакович**

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ДАНИИЛА ГАЛИЦКОГО

### Резюме

На пермеабелизованных лимфоцитах периферической крови человека показано, что ингибитор M<sub>1</sub>-холинергических рецепторов пирензепин (гастроципин) ингибирует пероксидное окисление липидов и активирует ферменты антиоксидантной защиты – глутатионпероксидазу и глутатионредуктазу. Лимфоциты могут быть моделью для изучения механизмов действия препаратов, которые реализуют свои эффекты через мускариновые холинергические рецепторы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: лимфоциты, пирензепин, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, малоновый диальдегид.

## ACTIVITY OF ENZYMES OF GLUTATHIONE ANTIOXIDANT SYSTEM OF PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES UNDER PIRENZEPINE INFLUENCE

**Z.D. Vorobets, O.V. Kimakovych**

LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY

### Summary

It was shown on the permeabilized lymphocytes of human peripheral blood that inhibitor of M<sub>1</sub>-cholinergic receptors pirenzepine (gastrocepin) inhibits lipid peroxidation and activates the enzymes of antioxidant protection – glutathione peroxidase and glutathione reductase. Lymphocytes can be a model for studying the mechanism of influence of the preparations which realize their action via muscarine cholinergic receptors.

KEY WORDS: lymphocytes, pirenzepine, glutathione peroxidase, glutathione reductase, malone dyaldehyde.

## ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ ДЕЯКИХ ФЕРМЕНТІВ ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ ДІЙ У ТКАНИНАХ ЩУРІВ ЗА ХОЛОДОВОГО СТРЕСУ

Л.М. Петрунь, І.П. Крисюк, В.О. Михайловський  
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ

*Вивчали інтенсивність перекисного окислення ліпідів у тканинах печінки та тимуса щурів за холодового стресу (+2–+4 °С). Встановлено, що при дії низької температури навколишнього середовища протягом 3 годин інтенсивність ПОЛ, що визначається за вмістом малонового діальдегіду, підвищується в тканинах печінки та тимуса. Змінюється активність ферментів як прооксидантної, так і антиоксидантної дії. Дослідження ведуться в напрямку зменшення руйнівної сили холодового стресу.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** холодовий стрес, перекисне окиснення ліпідів, печінка, тимус.

**ВСТУП.** За дії екстремальних факторів (гіпоксія, переохолодження, перегрів, опромінення різними видами радіації) в організмі відбувається мобілізація захисного пулу ендогенних активних речовин (гістаміну, серотоніну, катехоламінів тощо.) [8, 10]. Доведено, що у щурів за холодового стресу формується адаптивна відповідь. Тварини більш ефективно використовують кисень на процеси окиснювального метаболізму та для підтримання температурного гомеостазу [1]. Спостерігали тривалі зміни в активності ферментів крові та травної системи [7]. Менше досліджено вплив стресорних агентів на тканини печінки та тимуса.

Печінка робить значний внесок у теплопродукцію, відіграє важливу роль в адаптації організму до низьких температур.

Тимус є основним лімфоїдним органом, що виконує важливі ендокринні та імунні функції. Негативна селекція Т-клітин у цій залозі зумовлює активування в небажаних клітинах апоптичної програми, що призводить до загибелі клітин [9]. Отже, можна припустити, що при ретельному вивченні змін у ферментних системах за холодового стресу можна взагалі поліпшити стан організму і запобігти виникненню апоптозу.

Метою нашої роботи було дослідження змін активності загального ПОЛ та конкретних ланок усього перексидантного процесу в тканинах печінки і тимуса щурів за холодового стресу.

© Л.М. Петрунь, І.П. Крисюк, В.О. Михайловський, 2004.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження проводили на білих щурах-самцях масою 130-150 г. віком 6 тижнів. Як стресорний агент застосовували охолодження тварин у холодильній камері при температурі +2-+4 °С протягом 3-х год. Для контролю використовували інтактних щурів, яких утримували в стандартних умовах віварію. Після охолодження тварин застосовували легкий хлороформний наркоз, потім декапітували їх та швидко виділяли печінку і тимус.

ПОЛ визначали за утворенням малонового діальдегіду [6], активність ксантиноксидази (КОД) та ксантиндегідрогенази – за кількістю утвореної сечової кислоти [2], активність глутатіонпероксидази (ГП) за утворенням глутатіону окисненого [4]. Результати досліджень обробляли статистично.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Отримані результати свідчать про те, що за холодового стресу (табл. 1) в тканині печінки щурів підвищується рівень ПОЛ на 53,2 %, а в тканині тимуса – на 34,7 %, тобто в цій залозі пасивніше проходять процеси ПОЛ.

Потенціальними інактиваторами ГП є перекиси ліпідів – продукти ПОЛ. ГП проявляє більшу спорідненість з  $H_2O_2$ , ніж каталаза, цим визначається її головна роль у метаболізмі низьких концентрацій  $H_2O_2$ . Даний фермент відіграє основну роль в інактивації ліпідних



гідроперекисів, і активність його найбільша в тканині печінки.

З таблиці 2 видно, що за холодового стресу в печінці щурів активність ГП зменшується на 21,8 %, а у тимусі – на 16,5 %, тобто тимус менш захищений від пероксидів.

У ході досліджень показано, що КОД є могутнім утворювачем супероксидного радикала, який вона ж сама знешкоджує, перетворюючи в перекис водню [5]. Утворення та знешкодження супероксидного радикала тісно пов'язані з окисненням гіпоксантину в ксантин.

Встановлено (табл. 3) незначну (на 10,5 %) активацію ксантиноксидазної реакції в тканині печінки щурів за холодового стресу та значну (на 42,4 %) – в тканині тимуса. Активність КОД у тканині печінки проявила себе аналогічно –

незначним підвищенням (на 8,5 %), а в тканині тимуса, навпаки, – вона зменшилась на 34,5 %.

Є літературні дані, що перетворення КОД–КДГ [12], може відігравати велику роль у фізіологічній регуляції активності КОД. Можливо, вона відбувається саме за умов холодового стресу. Оскільки КОД є одним з основних продуцентів вільнорадикального кисню, вважаємо, що, загальмувавши її активність, можна досягти певних результатів.

З метою запобігання розвитку глибоких біохімічних та гістофізіологічних змін в організмі щурів використали спермін – стабілізатор структури мембран, що гальмує енергетику клітин [3, 11]. У дослідях *in vitro* нами показано, що спермін (10<sup>-5</sup> М) гальмує активність КОД у тканині печінки на 42 %.

Таблиця 1 – Вплив холодового стресу на загальний рівень ПОЛ в організмі щурів

	Тканини	
	Печінка, мкМ/мг білка, (M±m)	Тимус, мкМ/мг білка, (M±m)
Контроль	0,819±0,156	0,1180±0,0038
Дослід	1,255±0,244*	0,159±0,013*
	+53,2 %	+34,7 %

Примітка. Тут і далі: p<0,05.

Таблиця 2 – Зміна глутатіонпероксидазної активності в тканинах щурів за холодового стресу

	Тканини	
	Печінка, мкМ/мг білка, (M±m)	Тимус, мкМ/мг білка, (M±m)
Контроль	3,234±0,240	1,82±0,14
Дослід	2,53±0,22*	1,52±0,12*
	-21,8 %	-16,5 %

Таблиця 3 – Зміна ксантиноксидазної (КОД) та ксантиндегідрогеназної (КДГ) активності за холодового стресу в організмі щурів.

	КОД		КДГ	
	Печінка, мкМ/мг білка, (M±m)	Тимус, мкМ/мг білка, (M±m)	Печінка, мкМ/мг білка, (M±m)	Тимус, мкМ/мг білка, (M±m)
Контроль	0,00923±0,00050	0,0045±0,0006	9,90±1,69	4,19±0,16
Дослід	0,01027±0,00090	0,0064±0,0004*	10,74±0,92	2,745±0,46*
	+10,2 %	+42,4 %	+8,5 %	-34,5 %

**ВИСНОВОК.** Проведені нами дослідження свідчать про те, що за холодового стресу в ранній період відновлення в організмі щурів відбувається активація процесів пероксидації. Попередні результати вказують на те, що з

метою запобігання глибоким біохімічним та гістофізіологічним змінам в організмі щурів за холодового стресу можна деякою мірою загальмувати ці процеси. Дослідження в цьому напрямку продовжуються.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Грек О.Р., Гусева Э.О., Гичев Ю.П., Шарпов В.И. Метаболиты антипирина в моче крыс с различной устойчивостью к гипоксии при холодом стрессе // Бюл. экспер. биол. – 2001. – 131, № 3. – С. 272-274.
2. Козаченко А.И., Рашба Ю.Э., Вартанян Л.С.

Новые ингибиторы ксантиндегидрогеназы из класса пиразола (3,4-)-пиримидинов // Хим. фармакол. журн. – 1982. – № 6. – С. 10-15.

3. Лукоянова Н.А., Мейланов И.С. Влияние внутрибрюшинного введения спермина на окислительные процессы в изолированных митохондриях

печени крыс при гипотермии // Бюл. exper. биол. и мед. -1998. – **125**, № 5. – С. 526.

4. Мони В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело. – 1986. – № 12. – С. 724-728.

5. Осипов Л.Н., Азизова О.А., Владимиров Ю.В. Активные формы кислорода и их роль // Успехи биол. химии. -1990. – 31. – С. 180-208.

6. Промыслов М.Ш., Демчук М.Л. Модификация метода определения суммарной антиоксидантной активности сыворотки крови // Вопросы мед. химии. – 1990. № 4. – С. 90-92.

7. Пшеничникова М.Г., Бондаренко Н.А., Шимкович М.В. Оксид азота как фактор генетически детерминированной устойчивости // Бюл. exper.

биол. и мед. – 2001. – **132**, № 11. – С. 510-513.

8. Buchanan K.L. Stress and the evolution of condition-dependent signals // Trends Ecol. Evol. – 2000. – **15**, № 4. – P. 156-160.

9. Kishimoto H., Sprent J. The thymus and central tolerance // Clin. Immunol. – 2000. – **95**. – P. 3-7.

10. Saplosky R.M. Neuroendocrinology of the stress response // Behavioural endocrinology / Ed J.B. Beker et al. – Cambridge, 1992. – P. 287-324.

11. Shan N., Thomas T. Activation of nuclear factor κB by polyamines in breast cancer cells // Biochemistry. – 1999. – **38**, № 45. – P. 14763-14774.

12. Zunqvist J., Morgenstern, R. Mechanism of activation of rat liver microsomal glutathione transferase by noradrenaline and xantine oxidase // Biochem. Pharmacol. – 1992. – **43**, № 8. – P. 1725-1728.

## ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЙ В ТКАНЯХ КРЫС ПРИ ХОЛОДОВОМ СТРЕССЕ

**Л.М. Петрунь, И.П. Крисюк, В.О. Михайловский**  
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ ИМ. А.В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАИНЫ, КИЕВ

### Резюме

*Изучали интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в тканях печени и тимуса крыс при холодном стрессе (+2-+4 °С). Установлено, что при действии низкой температуры окружающей среды в течение 3 часов интенсивность ПОЛ которая определяется по содержанию малонового диальдегида, повышается в ткани печени и тимуса. Изменяется активность ферментов как прооксидантного, так и антиоксидантного действия. Исследования ведутся в направлении снижения разрушающей силы холодного стресса.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** холодный стресс, перекисное окисление липидов, печень, тимус.

## PECULIARITIES OF FUNCTIONING OF SOME ENZYMES OF PRO- AND ANTIOXIDANT ACTION IN RAT TISSUES UNDER THE COLD STRESS

**L.M. Petrun, I.P. Krysyuk, V.O. Mykhailovsky**  
INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY BY O.O. PALLADIN NAS OF UKRAINE, KYIV

### Summary

*Intensity of lipid peroxidation (LPO) in the liver and thymus tissues of rats under the cold stress (+2-+4 °C) was studied. It has been established that the intensity of lipid peroxidation at the action of low environment temperature during three hours increases in the liver and thymus tissues, that is determined by the content of malonic dialdehyde. The activity of enzymes of both prooxidant and antioxidant action changes. Investigations are carried out the in the direction of decrease of the destroying force of cold stress.*

**KEY WORDS:** cold stress, lipid peroxidation, liver, thymus.

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

## СТАН ЛІГАНДНИХ ФОРМ ГЕМОГЛОБІНУ ЩУРІВ ЗА УМОВ КАДМІЄВОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Г.М. Ерстенюк

ІВАНО-ФРАНКІВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

*Досліджували вплив іонів кадмію на рівень загального, окси-, мет- і сульфгемоглобіну в еритроцитах білих безпородних щурів на 1, 2, 4, 6, 12 і 24-ту годину після введення 12 мг/кг CdCl<sub>2</sub>. Результати дослідження показали, що при введенні хлориду кадмію спостерігається зниження рівня загального й оксигемоглобіну на фоні збільшення вмісту мет- і сульфгемоглобіну.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** кадмієва інтоксикація, оксигемоглобін, метгемоглобін, сульфгемоглобін, лігандні форми.

ВСТУП. Серед техногенних забруднювачів внутрішнього середовища біологічних систем одне з провідних місць посідають іони важких металів, що вже в мікродозах можуть спричинити небезпечні ураження чутливих анатомо-фізіологічних систем і розвиток патологічних станів [1, 2, 6, 8, 9]. Особливо небезпечним важким металом є кадмій, який володіє великою міграційною швидкістю, біохімічною активністю і здатністю кумулюватись в органах і тканинах, має тривалий період напіввиведення з організму, що досягає 35-40 років.

Літературні дані свідчать про політропність токсичної дії кадмію, високу чутливість до цього важкого металу, зокрема клітин червоної крові, печінки та нирок, його мутагенну і канцерогенну активність, здатність іонів кадмію активувати процеси перекисного окиснення ліпідів. Стосовно первинних біохімічних механізмів у розвитку кадміозу основну увагу дослідники в останні роки приділяють вивченню прооксидантної дії сполук кадмію на рівні процесів перекисного окиснення ліпідів та системи антиоксидантного захисту. За даними ряду авторів [3, 4, 5], саме швидкість вільнорадикального окиснення, розвиток оксидативного стресу, тканинної гіпоксії та адаптивної відповіді організму значною мірою визначаються структурно-функціональним станом еритроцитів і гемоглобіну, які одними з перших реагують на надходження ксенобіотиків. Разом із тим, у літературі відсутні детальні відомості стосовно впливу іонів кадмію на систему еритроцитарних мем-

© Г.М. Ерстенюк – к.біол.н., 2004.

бран, що не дозволяє створити раціональну схему первинних біохімічних механізмів дії цього важкого металу.

Виходячи із зазначеного, актуальними є дослідження біохімічних механізмів впливу іонів кадмію на лігандний спектр гемоглобіну.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Досліди проводили на нелінійних щурах-самцях масою 140-180 г. Кадмієву інтоксикацію спричиняли одноразовим внутрим'язовим введенням хлориду кадмію з розрахунку 12 мг /кг маси тіла тварини. Інтактним щурам вводили відповідну кількість 0,9 % розчину хлориду натрію. Забір матеріалу проводили під легким ефірним наркозом на 1, 2, 4, 6, 12 і 24-ту год після завершення введення хлориду кадмію. Концентрацію загального гемоглобіну (Hb) визначали ціанметгемоглобіновим методом, рівень оксигемоглобіну (HbO<sub>2</sub>), метгемоглобіну (MtHb) і сульфгемоглобіну (SHb) – за методиками, наведеними в літературі [7]. Статистичну обробку одержаних даних проводили на персональному комп'ютері IBM compatible з використанням критерію Стьюдента і показника достовірності.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У процесі гострої інтоксикації тварин іонами кадмію спостерігалось зниження рівня загального Hb та оксигенованої форми, причому за тривалої інтоксикації вміст її суттєво (табл. 1) зменшувався. Уже через годину після введення хлориду кадмію рівень HbO<sub>2</sub> був на 12,7 %, а на 24-ту год гострої інтоксикації – на 31,94 % нижчим за показники інтактних щурів, що

вказує на порушення кисневого гомеостазу в отруєних хлоридом кадмію тварин.

Деталізація процесів кисневого забезпечення тканин вимагає дослідження лігандних форм, зокрема метгемоглобіну, який утворюється в результаті окиснення гемоглобіну з утворенням супероксид-аніона, що не тільки має пошкоджувальний вплив на клітинні мембрани, але й ініціює появу інших хімічно активних та цитотоксичних форм кисню, знижує інтенсивність процесів оксигенації гемоглобіну.

Рівень MtHb у процесі гострої інтоксикації іонами кадмію (табл. 2) вже на 1-шу годину зростав на 64 % з чітко вираженою тенденцією до збільшення протягом 24-х годин експерименту. Це підтверджують і показники відносного вмісту Mt Mb, який на 24-ту год інтоксикації в 11 разів перевищував рівень даної форми в інтактних тварин.

SHb є важливим дериватом гемоглобіну, який утворюється шляхом розриву метинового містка у структурі гему і супроводжується незворотнім ушкодженням цього білка з вивільненням іонів заліза. Дослідження SHb за умов

кадмієвої інтоксикації є важливими, оскільки дозволяють з'ясувати рівень пошкодження гемоглобіну, доповнюють інформацію стосовно первинних біохімічних механізмів дії кадмію. Починаючи вже з першої години спостережень, вміст SHb перевищує показники інтактних тварин на 137 %, протягом доби експерименту прослідковується чітко виражена тенденція до накопичення цієї форми, на 24-ту годину її рівень у 7,2 раза вищий, ніж в інтактних шурів.

**ВИСНОВКИ.** Аналіз одержаних результатів дозволяє зробити висновок, що за умов впливу іонів кадмію відбуваються вагомні зміни в лігандному спектрі гемоглобіну, які проявляються зниженням вмісту оксигенованої форми гемоглобіну і високим рівнем неактивних дериватів, що створює передумови для наростання явищ гіпоксії гемічного характеру.

Викликають інтерес подальші дослідження біохімічних механізмів пошкоджувальної дії кадмію на систему гемоглобіну і забезпечення тканин киснем.

Таблиця 1 – Динаміка вмісту оксигемоглобіну за умов гострої кадмієвої інтоксикації

Період експерименту	Загальний Hb, г/л	HbO <sub>2</sub> , г/л	HbO <sub>2</sub> , %
Інтактні	132,34±0,918	120,55±1,940	91,09
1 <sup>ша</sup> год CdCl <sub>2</sub>	131,37±0,501	105,28±0,761**	80,14
2 <sup>га</sup> год CdCl <sub>2</sub>	119,17±0,392***	89,22±0,812***	74,87
4 <sup>та</sup> год CdCl <sub>2</sub>	110,60±0,391***	78,83±0,701***	71,27
6 <sup>та</sup> год CdCl <sub>2</sub>	120,22±0,585***	79,73±0,650***	66,32
12 <sup>та</sup> год CdCl <sub>2</sub>	128,83±0,280**	78,57±0,552***	60,99
24 <sup>та</sup> год CdCl <sub>2</sub>	87,12±0,335***	51,53±0,438***	59,15

Примітка. Тут і в наступній таблиці: \* – p<0,05; \*\* – p< 0,01; \*\*\* – p< 0,001 – достовірність порівняно з показниками інтактної групи тварин.

Таблиця 2 – Динаміка вмісту мет- і сульфгемоглобіну за умов гострої кадмієвої інтоксикації

Період експерименту	Загальний Hb, г/л	MtHb, г/л	SHb, г/л
Інтактні	132,340±0,918	0,900±0,013	0,820±0,012
1 <sup>ша</sup> година CdCl <sub>2</sub>	131,370±0,501	2,570±0,095***	2,440±0,119***
2 <sup>га</sup> година CdCl <sub>2</sub>	119,170±0,392***	2,580±0,091***	2,930±0,087***
4 <sup>та</sup> година CdCl <sub>2</sub>	110,600±0,391***	3,930±0,087***	3,480±0,106***
6 <sup>та</sup> година CdCl <sub>2</sub>	120,220±0,585***	4,080±0,081***	3,990±0,082***
12 <sup>та</sup> година CdCl <sub>2</sub>	128,830±0,280**	4,5900±0,067***	4,950±0,120***
24 <sup>та</sup> година CdCl <sub>2</sub>	87,120±0,335***	6,540±0,074***	5,920±0,091***

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Гонський Я.І., Ястремська С.О., Бойчук Б.Р. Вікові особливості порушення перекисного окиснення ліпідів і активності енергозабезпечувальних ферментів при кадмієвій інтоксикації // Мед. хімія. – 2001. – 3, № 1. – С. 16-19.
2. Губский Ю.И., Долго-Сабуров В.Б., Хра-

пак В.В. Химические катастрофы и экология. – К.: Здоровья, 1993. – 224 с.

3. Зинчук В.В., Максимович Н.А., Борисюк М.В. Функциональная система транспорта кислорода: фундаментальные аспекты. – Гродно.: ГрГМУ, 2003. – 236 с.
4. Калиман П.А., Баранник Т.В. Метаболизм

гема и оксидативный стресс // Укр. біохім. журн. – 2001. – 1, № 1. – С. 5-13.

5. Коробов В.М. Вплив гіпоксичної гіпоксії на киснезв'язувальні властивості гемоглобінів щурів і напівводних амніот // Експерим. фізіологія та біохімія. – 2001. – № 1. – С.38-40.

6. Кундиев Ю.И. Тычинин В.А., Трахтенберг И.М., Попович М.И. Адаптационные и компенсаторные реакции при воздействии на организм экзогенных химических соединений // Curierul medical. – 1996. – № 5. – Р.41-48.

7. Кушаковский М.С. Клинические формы повреждения гемоглобина. – Л.: Медицина, 1968. – 324 с.

8. Нейко Є.М., Губський Ю.І., Ерстенюк Г.М. Інтотоксикація кадмієм: токсикокінетика і механізм біоцидних ефектів // Журн. АМН України. – 2003. – 9, № 2. – С. 250-261.

9. Трахтенберг И.М. Тяжелые металлы как химические загрязнители производственной и окружающей среды // Довкілля та здоров'я. – 1997. – № 2. – С. 46-5

## СОСТОЯНИЕ ЛИГАНДНЫХ ФОРМ ГЕМОГЛОБИНА КРЫС ПРИ КАДМИЕВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

**А.М. Эрстенюк**

ИВАНО-ФРАНКОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

### Резюме

*Исследовали влияние ионов кадмия на уровень общего, окси-, мет- и сульфгемоглобина в эритроцитах белых беспородных крыс на 1, 2, 4, 6, 12 и 24-й ч. после введения 12 мг/кг CdCl<sub>2</sub>. Результаты исследования показали, что при введении хлорида кадмия наблюдается снижение уровня общего и оксигемоглобина на фоне увеличения содержания мет- и сульфгемоглобина.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** кадмиевая интоксикация, оксигемоглобин, метгемоглобин, сульфгемоглобин, лигандные формы.

## STATE OF LIGAND FORMS OF HEMOGLOBIN IN RATS DURING CADMIUM INTOXICATION

**H.M. Ersteniuk**

IVANO-FRANKIVSK STATE MEDICAL ACADEMY

### Summary

*The influence of cadmium ions on the total, oxy-, met- and sulfhemoglobin level in erythrocytes of white inbred rats was investigated on the 1-st, 2-nd, 4-th, 6-th, 12-th and 24-th hour after the injection of 12 mg CdCl<sub>2</sub> per kg of bodyweight.*

*The results of the study showed that at the injection of cadmium chloride the decrease of total and oxyhemoglobin level against a background of the increase of met- and sulfhemoglobin level is observed.*

**KEY WORDS:** cadmium intoxication, oxyhemoglobin, methemoglobin, sulfhemoglobin, ligand forms.

**Адреса для листування:** Г.М. Ерстенюк, вул. Галицька, 120, кв. 22, Івано-Франківськ, Україна.



## ВПЛИВ КВЕРЦЕТИНУ НА АКТИВНІСТЬ ХІМАЗИ, ТОНІНУ ТА ЕЛАСАЗИ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ІНТОКСИКАЦІЇ ХЛОРИДОМ КОБАЛЬТУ

Л.М. Самохіна

ІНСТИТУТ ТЕРАПІЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ, ХАРКІВ

*Хлорид кобальту викликає активацію хімази, тоніну в органах-мішенях та еластази у всіх органах. Попереднє введення кверцетину (Кв) запобігає розвитку вазоконстрикторних і деструктивних ефектів, але одноразового його застосування недостатньо.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **кверцетин, хімаза, тонін, еластаза, хлорид кобальту.**

**ВСТУП.** Клінічні та епідеміологічні дані свідчать про те, що за надмірної дії іонів кобальту підвищується кількість серцево-судинних захворювань (ССЗ) [5]. Кобальт є елементом зі змінною валентністю і, завдяки цьому, може брати участь у біологічних системах перенесення електронів [3]. Наслідками можуть бути генерація активних метаболітів кисню та окиснювальний стрес, який є важливим етіологічним та патогенетичним фактором ряду захворювань, а саме: атеросклерозу, гіпертонічної хвороби, серцевої недостатності, бронхолегеневих захворювань, запальних процесів тощо [4].

Важливу роль у патогенезі захворювань внутрішніх органів відіграють протеїнази – ферменти утворення ангіотензину II (All) (хімаза, тонін) та деструктивні протеїнази, серед яких особливе значення має еластаза нейтрофілів, що здатна розщеплювати протеоглікани, фібронектин, колагени тощо.

Кверцетин (3,3,4,5,7-пентагідроксифлавоон) – рослинна сполука флавоноїдного ряду, має антизапальні та антиоксидантні властивості. Дослідження, проведені раніше, дозволили виявити, що попереднє його введення запобігає активації нейтральних протеїназ і зниженню рівня  $\alpha$ -2-макроглобуліну через 2 год після дії хлориду кобальту [1].

Мета дослідження – вивчити роль попереднього введення кверцетину у характері змін активності хімази, тоніну та еластази щурів за умов дії хлориду кобальту.

© Л.М. Самохіна – к.біол.н., 2004.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** В експериментах використано щурів-самців лінії Вістар 2-3-місячного віку (n=6). 1-й групі вводили внутрішньоочеревинно хлорид кобальту ( $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) у дозі 3 мг/100 г маси тіла, 2-й за 2 год до ін'єкції  $\text{Co}^{2+}$  – 100 мг/100 г Кв, контрольній групі – фізіологічний розчин у відповідному об'ємі. Щурів декапітували через 2 год після ін'єкції фізіологічного розчину або хлориду кобальту. Печінку перфузували охолодженим фізіологічним розчином. Тканини легень, серця, печінки та нирок (300 мг) гомогенізували в 3 мл Na-фосфатного буфера (pH = 7,4) при температурі 4-6 °C та центрифугували 10 хв при 5000 об./хв на центрифугу РС-6 при 4-6 °C. Зберігали при -20 °C до аналізу.

Активність хімази, тоніну, еластази визначали високочутливим ( $10^{-9}$ - $10^{-10}$  г) ферментативним методом, який полягає у використанні для протеолітичної реакції іммобілізованих на полістиролі комплексів маркерного ферменту і субстратів білкової природи [2]. Визначали залишкову активність маркерного ферменту при 492 нм. Активність хімази, тоніну виражали в Е (мкМоль субстрату за 1 хв), еластази – в Од/г тканини.

У дослідженнях використовували пероксидазу хрону, протамінсульфат, еластазу (Росія), соєвий інгібітор трипсину "Reanal" (Угорщина), фрагмент 4-8 All, апротинін, N-Succinyl-Ala-Ala-Val фірми "ICN" (США), Кв Борщагівського хімфармзаводу, полістиролові плашки фірми "Linbro" (США) і багатоканальний мікроспек-

трофотометр фірми "Flow" (Великобританія). Отримані дані оброблено математично згідно із Стьюдентом-Фішером.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати дослідження наведено у таблиці 1.

У результаті дії хлориду кобальту виявлено збільшення активності тоніну в серці та печінці, хімази – в легенях, печінці та нирках, еластази – у всіх досліджуваних органах. Органоспецифічні особливості відзначені у підвищенні активності тоніну у серці на тлі відсутності змін рівня хімази. За умов попереднього введення Кв зазначено зменшення рівня вмісту тоніну в серці і легенях, а в печінці він залишався більшим за нормальне значення. Активність хімази знижувалась у легенях і нирках, а в печінці залишалась вищою від контрольного рівня. Активність еластази зменшувалась у всіх досліджуваних органах, але досягала нормального значення лише в легенях.

Зростання рівня тоніну в серці вказує на локальну активацію альтернативних шляхів утворення All, яка забезпечується, найімовірніше його вивільненням печінкою. Підвищення активності досліджуваних протеїназ у печінці й нирках зумовлене, мабуть, більшим накопиченням кобальту в цих органах. Відсутність зростання рівня хімази в серці може бути викликана її меншою локальною активністю у щурів порівняно з людиною, а також її участю в розщепленні All, крім того, низькою концентрацією Al.

При потраплянні в організм іонів кобальту підвищується рівень імуноглобуліну E (IgE); небезпечні клітини (ОК) і базофіли, які мають мембранні рецептори, що зв'язують IgE з високою афінністю, вивільняють медіатори, такі, як цитокіни, протеїнази, гістамін, що

призводить до розвитку запальних і алергічних реакцій. Хімаза – один з основних протеолітичних ферментів ОК, її активація зумовлює розвиток гіпертрофії міокарда, ремоделювання тканин серцево-судинної системи, виникнення фіброзних змін при легеневої гіпертензії тощо. Хімаза є хемотаксичним чинником для нейтрофілів, еозинофілів та інших клітин, що беруть участь у розвитку запальних процесів. ОК продукують також фактор некрозу пухлин- $\alpha$ , який регулює продукцію інтерлейкіну-6 в інфільтрованих лейкоцитах та індукує каскад цитокінів, що відповідають за індукцію молекул міжклітинної адгезії-1 і наступні нейтрофілопосередковані ушкодження, зумовлені вивільненням супероксид-аніонів і еластази.

Дія Кв запобігає деструктивним процесам за участю еластази, пригнічує утворення All, але не захищає від наступного синтезу та вивільнення хімази і тоніну печінкою. Отже, для попередження розвитку вазоконстрикторних ефектів All і подальшого посилення окиснювального стресу, що може бути зумовлено функціонуванням All, одноразового застосування Кв недостатньо.

**ВИСНОВКИ.** За умов інтоксикації хлоридом кобальту спостерігаються зростання активності ферментів утворення вазоконстрикторного пептиду All – хімази, тоніну в органах-мішенях та розвиток деструктивних процесів за участю еластази, що може призводити до ССЗ із супровідним ураженням легень, нирок. Попереднє введення в організм Кв запобігає розвитку вазоконстрикторних і деструктивних ефектів хлориду кобальту, але для досягнення нормального стану одноразового застосування Кв недостатньо.

Таблиця 1 – Активність тоніну, хімази та еластази у щурів під дією хлориду кобальту та за умов попереднього введення кверцетину

Досліджуваний показник	Досліджувані органи	Контроль	Хлорид кобальту	Кверцетин+ хлорид кобальту
Активність тоніну, $E \times 10^6$	Легені	5,61 $\pm$ 1,14	4,49 $\pm$ 1,49	2,56 $\pm$ 0,65*
	Серце	2,58 $\pm$ 0,72	3,98 $\pm$ 1,20***	1,20 $\pm$ 0,28*#
	Печінка	2,48 $\pm$ 0,87	5,25 $\pm$ 1,88***	6,01 $\pm$ 1,43*
	Нирки	3,92 $\pm$ 1,28	3,20 $\pm$ 0,70	2,89 $\pm$ 0,84
Активність хімази, $E \times 10^6$	Легені	15,97 $\pm$ 4,33	25,84 $\pm$ 7,60*	8,96 $\pm$ 3,19#
	Серце	14,89 $\pm$ 5,77	14,95 $\pm$ 5,87	21,50 $\pm$ 8,56
	Печінка	17,11 $\pm$ 5,85	22,91 $\pm$ 7,23*	34,67 $\pm$ 13,07*
Активність еластази, Од./г тканини	Нирки	23,88 $\pm$ 8,11	44,65 $\pm$ 9,00**	25,27 $\pm$ 8,49#
	Легені	0,032 $\pm$ 0,007	0,09 $\pm$ 0,02*	0,048 $\pm$ 0,019#
	Серце	0,075 $\pm$ 0,021	0,10 $\pm$ 0,02*	0,022 $\pm$ 0,002*#
	Печінка	0,062 $\pm$ 0,019	0,18 $\pm$ 0,03*	0,025 $\pm$ 0,002***#
	Нирки	0,095 $\pm$ 0,026	0,18 $\pm$ 0,02*	0,023 $\pm$ 0,004***#

Примітка. \*, \*\*, \*\*\*, #, ## – достовірність відмінностей  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$  порівняно з контролем і дією хлориду кобальту відповідно.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Калиман П.А., Самохин А.А., Самохина Л.М. Влияние кверцетина на некоторые показатели системы протеиназа-ингибитор протеиназ у крыс при введении им хлорида кобальта. Укр. биохим. журн. – 2001. – **73**, № 6. – С. 127 – 130.
2. Самохіна Л.М., Познахарева І.О., Самохін А.А. Активність хімази, тоніну та еластази за умов окислювального стресу, який викликано введенням хлориду ртуті // Мед. хімія. – 2001. – **3**, № 3. – С. 25-28.
3. Carter D.E. Oxidation-reduction reactions of metal ions // Environ. Health Perspect. – 1995. – Suppl. 1. – P. 17-19.
4. Frei B. On the role of vitamin C and other antioxidants in atherogenesis and vascular dysfunction // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. – 1999. – **222**, № 3. – P. 196-204.
5. Hatori N., Pehrsson S.K., Clyne N. et al. Acute cobalt exposure and oxygen radical scavengers in the rat myocardium // Biochem. Biophys. Acta. 1993. – **1181**, № 3. – P. 257-260.

## ВЛИЯНИЕ КВЕРЦЕТИНА НА АКТИВНОСТЬ ХИМАЗЫ, ТОНИНА И ЭЛАСТАЗЫ У КРЫС ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ХЛОРИДОМ КОБАЛЬТА

**Л.М. Самохина**

*ИНСТИТУТ ТЕРАПИИ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ*

#### Резюме

*Хлорид кобальта вызывает активацию химазы, тонина в органах-мишенях и эластазы во всех органах. Предварительное введение Кверцетина предотвращает развитие вазоконстрикторных и деструктивных эффектов, но однократного его применения недостаточно.*

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **кверцетин, химаза, тонин, эластаза, хлорид кобальта.**

## QUERCETIN INFLUENCE ON CHYMASE, TONIN AND ELASTASE ACTIVITIES IN RATS AT INTOXICATION BY COBALT CHLORIDE

**L.M. Samokhina**

*INSTITUTE OF THERAPY OF ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES OF UKRAINE, KHARKIV*

#### Summary

*The cobalt chloride promotes the activation of chymase, tonin in organs-targets and elastase in all the organs. The preliminary injection of quercetin prevents the development of vasoconstrictory and destructive effects, but it is not enough of its single-pass application.*

KEY WORDS: **Quercetin, chymase, tonin, elastase, cobalt chloride.**

Адреса для листування: *Л.М. Самохіна, вул. Шарикова, 54, кв. 8, Харків-189, 61189, Україна.*

## ЕНДОГЕННИЙ ІНГІБІТОР ЦИСТЕЇНОВОГО КАТЕПСИНУ L З МОЗКУ ЛЮДИНИ

О.Л. Лянна, В.І. Чорна  
ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

*Запропонована схема виділення та очищення ендogenousного інгібітора лізосомного цистеїнового катепсину L дозволила за 5 етапів (гомогенізація, висолювання сульфатом амонію (30-80 % насичення), гель-фільтрація на сефадексі G-75, іонообмінна хроматографія на ДЕАЕ сефадексі А-50, гель-хроматографія на сефадексі G-100) очистити антипротеїназу неокортексу людини в 640 разів. Методами графічного аналізу ферментативної кінетики визначено характер взаємодії виділеного ендogenousного інгібітора мозку із цистеїновим катепсином L.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **інгібітор, лізосомний цистеїновий катепсин L, неокортекс.**

ВСТУП. Протеолітична активність надзвичайно важлива для нормального функціонування організму, тому її потрібно ретельно контролювати для запобігання потенційно небезпечній надмірній деградації білків. Порушення механізмів біологічного контролю за протеолітичною активністю спричиняє розвиток багатьох захворювань, серед яких рак, ревматоїдний артрит та остеоартрит, хвороба Альцгеймера, множинний склероз та м'язова дистрофія [12]. Зазначимо, що паралельно дослідженням протеолітичних ферментів ведеться інтенсивне вивчення регуляторів їх дії – інгібіторів протеїназ. Серед багатьох антипротеїназ крові та тканин ендogenousні інгібітори цистеїнових катепсинів найменш вивчено, незважаючи на їх поширеність і високу ефективність відносно лізосомних ендopeптидаз [4]. У літературі представлено результати досліджень інгібіторів, які містяться в печінці [5], нирках [9], плазмі крові [7], сечі [11]. Невивченим залишається спектр антипротеїназ мозку, який має значний протеолітичний потенціал з істотним вмістом цистеїнових катепсинів. Цистеїновий катепсин L надзвичайно цікавий для вивчення, оскільки вважається, що він залучений у патогенез багатьох патологічних станів, зокрема пухлинної інвазії та метастазування [6]. Таким чином, дослідження цього протеолітичного ферменту, а також його ендogenousного інгібітора актуальне для з'ясування механізмів злоякісного росту і пошуку нових лікарських препаратів, які б нормалізували протеоліз у хворих на онкологічні захворювання.

© О.Л. Лянна, В.І. Чорна, 2004.

Тому ми поставили мету виділити, очистити ендogenousний інгібітор лізосомної цистеїнової протеїнази катепсину L із мозку людини та дослідити його властивості, оскільки отримана інформація може мати суттєве значення при дослідженні кількісних і якісних змін у метаболічних процесах мозку при патогенезі багатьох захворювань, особливо онкологічних.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктом дослідження був неокортекс головного мозку людини. Мозок людини отримували в обласній клінічній лікарні ім. І.І. Мечнікова м. Дніпропетровська від жертв нещасних випадків. Автопсію матеріалу проводили через 12 год після смерті людей, які не мали ушкоджень ЦНС. Усі операції з головним мозком виконували при температурі 0-+4 °С. Гомогенати готували у співвідношенні 1:9 на 0,025 М трис-НСІ буфері (рН-7,4), що містив 1 мМ ЕДТО та 0,15 М NaCl. Отримані екстракти фракціонували сульфатом амонію в діапазоні 30-80 % насичення. Проводили діаліз проти дистильованої води, що містила 0,15 М NaCl, або застосовували гель-фільтрацію на сефадексі G-25. Для подальшого виділення та очищення інгібітора головного мозку здійснювали гель-фільтрацію на колонці із сефадексом G-75 та іонообмінну хроматографію на ДЕАЕ сефадексі А-50. Усі колонки врівноважували 0,1 М фосфатним буфером (рН-6,0). Елюцію білків, що не зв'язалися з ДЕАЕ сефадексом А-50, проводили буфером, яким врівноважували колонку. Зв'язані з ДЕАЕ сефадексом А-50 білки елюювали 0,1 М фосфатним буфером, що містив 0,3 М NaCl.

Для оцінки інгібіторної активності препаратів, отриманих із тканини мозку, їх піддавали попередній інкубації з 10 % гомогенатом при температурі 37 °С протягом 15 хв. Далі до інкубаційної суміші додавали азоказеїн, денатурований сечовиною (3 М), як субстрат, з допомогою якого реєстрували залишкову активність катепсину L спектрофотометричним методом і виражали в одиницях оптичної густини при 366 нм за 1 хв і температурі 37 °С на 1 мг білка. Білок визначали за методом Бредфорда [3].

Тип інгібування і кінетичні параметри взаємодії очищеного інгібітора з ферментом визначали, використовуючи методи графічного аналізу Лайнуївера й Берка та Диксона [2]. Отримані результати обробляли статистично за t-критерієм Стюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** При гель-фільтрації діалізату після 80 % насичення сульфатом амонію на колонці із сефадексом G-75 виявляли одну фракцію, що містила переважну кількість інгібітора, і піддавали її подальшому очищенню. Ступінь очищення приблизно в 5 разів забезпечується гель-фільтрацією і зростає приблизно у 130 разів на етапі іонообмінної хроматографії на ДЕАЕ сефадексі А-50 відносно гель-фільтрації. Профіль елюції білка має вигляд трьох піків, найбільший з яких представлений білками (рис. 1), що зв'язалися з носієм колонки і елювалися натрій-фосфатним буфером з 0,3 М NaCl (рН 6,0). Аналіз інгібіторної активності свідчить про те, що мінімальне значення активності катепсину L припадає на 12-14 фракції з третього піку білка (рис. 1). Для подальших досліджень використовували 12-13 фракції, які наносили на колонку із сефадексом G-100 і елювали 0,1 М натрій-фосфатним буфером із рН 6,0.

Виділений і очищений у 640 разів (відносно гомогенату) ендogenous інгібітор катепсину L

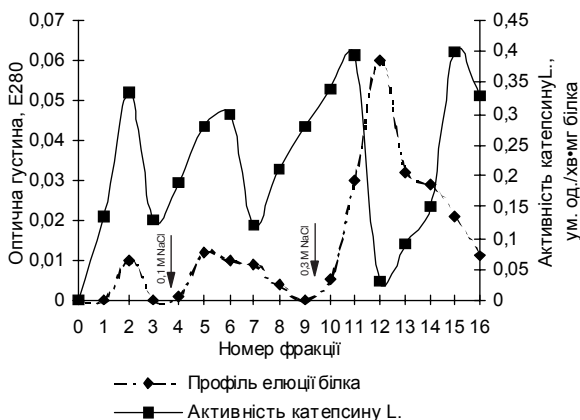


Рис. 1. Аналіз інгібіторної активності.

з неокортексу людини піддавали визначенню типу інгібування. Для цього використовували кінетичні залежності за Міхаелісом-Ментен, а для уточнення взаємодії виділеного інгібітора та катепсину L мозку людини застосовували залежність за Лайнуївером і Берком (рис. 2) – графік залежності  $[S]/v$  від  $[S]$ . Нами встановлено, що виділений інгібітор проявляє характер неконкурентного інгібування. Відомо, що інгібітор, виділений із нирки людини, виявляє конкурентний характер пригнічення [1], при цьому встановлено значне споріднення цього білка з катепсином В і папаїном. Співвідношення між ферментом та інгібітором у фермент-інгібіторному комплексі з'ясовували за методом Диксона [2]. Встановлена нелінійна кінетична залежність свідчить не про еквімолярне співвідношення, а про ймовірну взаємодію двох молекул інгібітора з молекулою цистеїнового катепсину L.

Як відомо, більшість природних білкових інгібіторів цистеїнових протеїназ називають цистатинами. Родина цистатинів людини поділяється на три класи: стефіни, цистатини та кініногени. Стефіни А та В – внутрішньоклітинні на відміну від цистатинів, які переважно зовнішньоклітинні. Існують докази того, що інгібітори цистеїнових протеїназ – надзвичайно стійкі білки, які проявляють резистивність відносно інактивуючої дії високих температур та лужних значень рН [8]. Дослідження спектра інгібіторної активності виділеного нами препарату інгібітора показало, що він здатний пригнічувати активність цистеїнового катепсину L за умов тривалого зберігання (1-2 тижні) при температурі +4 °С. Дослідження ендogenous інгібіторів лізосомних протеїназ мозку, а також змін рівнів активності цистеїнових катепсинів мозку, викликаних дією цих інгібіторів, має суттєве значення для формування об'єктивної оцінки реакції тканини головного мозку на

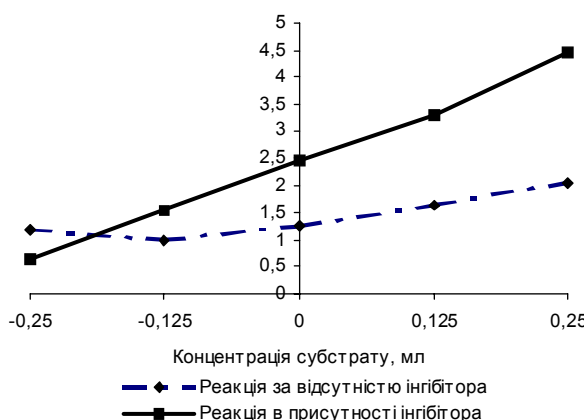


Рис. 2. Залежність  $[S]/v$  від  $[S]$ .



патологічні процеси в експериментальних та клінічних умовах, що необхідно для підвищення ефективності терапії захворювань [10].

**ВИСНОВКИ.** Запропоновано процедуру виділення та очищення ендogenous інгібітора

цистеїнового катепсину L із неокортексу людини. Визначені кінетичні характеристики виділеного інгібітора свідчать про тип інгібування і можливий механізм взаємодії з лізосомним цистеїновим катепсином L.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Кирпиченко Л.Н., Щербак И.Г. Эндogenous ингибитор цистеиновых протеиназ из почки человека // Укр. биохим. журн. – 1987. – **59**, № 1. – С. 10-15.
2. Уэбб Л. Ингибиторы ферментов и метаболизма. – М.: Мир, 1966. – 862 с.
3. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quatitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. – 1976. – **72**. – P. 248-254.
4. Grzonka Z., Jankowska E. Structural studies of cysteine proteases and their inhibitors // Acta Biochimica Polonica. – 2001. – **48**, № 1. – P. 1-20.
5. Hirado M., Iwata D. Purification and properties of thiol proteinase inhibitor from rat liver cytosol // Biochim. Biophys. Acta. – 1981. – **669**, № 1. – P. 21-27.
6. Kane S.E., Gottesman M.M. The role of cathepsin L in malignant transformation // Seminars in Cancer Biology. – 1990. – **1**. – P. 127-136.
7. Lenney J., Liao J., Sugg S. Low molecular weight

- inhibitor of cathepsins B, H and L in human serum, sinovial fluid and CSF // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1982. – **108**, № 4. – P. 1581-1587.
8. Lenney J.F., Tolan J.R. Thermostable endogenous inhibitors of cathepsins B and H // Eur. J. Biochem. – 1979. – **101**, № 1. – P. 153-161.
9. Leutscher J.A., Bialek J.W., Grislis G. Human kidney cathepsin B and H activate and low molecular weight of human inactive rennin // Clin. Exp. Hypertens. – 1982. – **A4**, № 11-12. – P. 2149-2158.
10. Sloane B.F. Cathepsin B and cystatins: evidence for a role in cancer progression // Seminars in Cancer Biology. – 1990. – **1**. – P. 137-152.
11. Taniguchi K., Sasaki M. Partial purification and properties of urinary thiol proteinase inhibitors // J. Biochem. – 1981. – **89**, № 1. – P. 179-184.
12. Turk D., Guncar G. Lysosomal cysteine proteases (cathepsins): promising drug targets // Acta Cryst. – 2003. – **59**. – P. 203-213.

## ЭНДОГЕННЫЙ ИНГИБИТОР ЦИСТЕИНОВОГО КАТЕПСИНА L ИЗ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА

**О.Л. Лянная, В.И. Черная**  
ДНЕПРОПЕТРОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

#### Резюме

Предложенная схема выделения и очистки endogenous ингибитора лизосомного цистеинового катепсина L позволила за 5 этапов (гомогенизация, высаливание сульфатом аммония (30-80 % насыщения), гель-фильтрация на сефадексе G-75, ионообменная хроматография на ДЕАЕ сефадексе А-50, гель-хроматография на сефадексе G-100) очистить антипротеиназу неокортекса человека в 640 раз. Методами графического анализа ферментативной кинетики определен характер взаимодействия выделенного endogenous ингибитора мозга с цистеиновым катепсином L.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** ингибитор, лизосомный цистеиновый катепсин L, неокортекс.

## ENDOGENOUS INHIBITOR OF CYSTEINE CATHEPSIN L FROM HUMAN BRAIN

**O.L. Lyanna, V.I. Chorna**  
DNIPROPETROVSK NATIONAL UNIVERSITY

#### Summary

Suggested scheme of extraction and purification of lysosomal cysteine L endogenous inhibitor led at 5 steps (homogenization, salting-out by ammonium sulfate (30-80 % saturation), gel-filtration on sephadex G-75, ion-exchange chromatography on DEAE sephadex A-50, gel-chromatography on sephadex G-100) purify human neocortex antiproteinase in 640 folds. The type of interaction between extracted brain endogenous inhibitor and cysteine cathepsin L was determined by graphical methods of enzymatic kinetics analysis.

**KEY WORDS:** inhibitor, lysosomal cysteine cathepsin L, neocortex.

## ВПЛИВ ВИНОГРАДНИХ ВИН ТА ЇХ КОМПОНЕНТІВ НА ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ, КІЛЬКІСТЬ ОКИСНЮВАЛЬНИХ МОДИФІКАЦІЙ БІЛКІВ ТА АКТИВНІСТЬ КСАНТИНОКСИДАЗИ ПРИ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОМУ СТРЕСІ У ЩУРІВ

Л.М. Вороніна<sup>1</sup>, А.Л. Загайко<sup>1</sup>, А.О. Самохін<sup>1</sup>, Ю.О. Огай<sup>2</sup>  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ<sup>1</sup>  
ІНСТИТУТ ВИНОГРАДУ І ВИНА "МАГАРАЧ", ЯЛТА<sup>2</sup>

*Проведено порівняльне дослідження впливу поліфенольних концентратів і вин, отриманих із винограду культурного, та розчину етилового спирту на перекисне окиснення ліпідів, вміст окиснювально модифікованих білків та активність ксантинооксидази при іммобілізаційному стресі у щурів. Встановлено, що досліджувані вина та поліфенольні концентрати ефективно попереджують розвиток окисдативного стресу та активацію ксантинооксидази при іммобілізації тварин.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** вино, іммобілізаційний стрес, перекисне окиснення ліпідів, антиоксиданти, окиснювальна модифікація білків, ксантинооксидаза.

**ВСТУП.** Вплив на організм різних стресорних агентів викликає низку загальних фізіологічних реакцій відповіді, однією з яких є підвищення утворення активних метаболітів кисню (АМК). Одними з основних мішеней АМК є молекули ліпідів та білків. Окиснення молекул ліпідів супроводжується пошкодженням мембранних структур та ліпопротеїнових комплексів, окиснення білків може супроводжуватись різноманітними патологічними змінами. У разі окиснення молекул ферментів може значно змінюватись метаболізм на рівні клітин та тканин за рахунок зміни їх активності й здатності взаємодіяти із субстратом. В окиснених молекулах білків підвищується чутливість до протеолітичних ферментів та змінюються імуногенні властивості.

Одним із значних джерел антиоксидантів – сполук, що попереджують підвищення рівня АМК, є ягоди винограду культурного, в продуктах переробки яких міститься велика кількість поліфенолів, серед яких значна частина має антиоксидантні властивості. На даний час широко ведуться дослідження біологічної активності вин та безалкогольних продуктів переробки ягід винограду і часто зустрічаються суперечливі дані щодо окремої і сумісної дій поліфенолів та етилового спирту на перебіг біо-

логічних процесів [8, 9, 10, 11, 14, 16]. Метою даної роботи було порівняльне дослідження впливу етилового спирту, поліфенольних комплексів та вин, отриманих із винограду культурного, на перекисне окиснення ліпідів, концентрацію окиснювально модифікованих білків та активність ксантинооксидази при іммобілізаційному стресі у щурів.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** У роботі використовували безпородних щурів-самиць масою 180-220 г, яких утримували в умовах віварію Національного фармацевтичного університету. Всіх експериментальних тварин було поділено за чутливістю до стресу на стійких та нестійких (метод відкритого поля). Одним щурам протягом 21 доби щоденно перорально вводили виноградні вина сортів "Каберне" та "Ркацителі" в дозах, що відповідали 300 мл вина на людину масою 70 кг. Іншим – спирт у дозі, що відповідала 30 мл спирту на людину масою 70 кг, а також поліфенольні екстракти "Еноант" та "Поліфен" у дозі 0,5 мл/кг маси тіла. Виноградні вина та поліфенольні концентрати були надані Інститутом винограду і вина "Магарач". Контрольним тваринам вводили відповідний об'єм фізіологічного розчину. Стрес викликали іммобілізацією на животі протягом 3 год [3]. Щурів декапітували через 3 год після іммобілізації. Кров збирали для отримання

© Л.М. Вороніна, А.Л. Загайко, А.О. Самохін, Ю.О. Огай, 2004.

сироватки. Печінку перфузували холодним середовищем виділення (0,25 М сахароза в 0,025 М трис-НСІ, рН-7,5), гомогенізували в гомогенізаторі Потера з розрахунку 1 г печінки у 2 мл середовища виділення. Усі маніпуляції з тваринами проводили під хлоралозоуретановим наркозом [4].

Визначення кількості продуктів перекисного окиснення ліпідів [2, 3] проводили в гептанізопропанольних екстрактах. Визначали оптичну густину при довжині хвилі 220 нм (для сполук з ізольованими подвійними зв'язками – ІПЗ), 232 нм (для дієнових кон'югат – ДК) та 278 нм (для кетодієнів та сполучених триєнів – КД+СТ).

Вміст малонового діальдегіду (МДА) та інших ТБК-активних продуктів визначали спектрофотометричним методом за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [6].

Активність каталази визначали за інтенсивністю розщеплення перекису водню [5].

Активність ксантиоксидази визначали за швидкістю утворення сечової кислоти із ксантину [7].

Ступінь окиснення білкових молекул визначали за кількістю окиснених амінокислотних залишків, що взаємодіють з 2,4-динітрофе-

нілгідразином (2,4-ДНФГ) з утворенням 2,4-динітрофенілгідрозонів, та виражали в одиницях оптичної густини, віднесених на 1 мл сироватки [1].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Емоційно-больовий стрес супроводжується активацією вільнорадикального окиснення. Так, у гомогенаті печінки відмічено зменшення вмісту ізольованих подвійних зв'язків та збільшення вмісту продуктів ПОЛ – дієнових кон'югат, кетодієнів та сполучених триєнів і ТБК-активних продуктів, а також підвищення рівня окиснювальних модифікацій білків (табл. 1). Активність одного з основних антиоксидантних ферментів – каталази – при цьому не змінювалась (табл. 1), що свідчить про недостатню активність ферментативного ланцюга антиоксидантної системи за умов емоційно-больового стресу. Активність ксантиоксидази (КО) при емоційно-больовому стресі підвищувалась. Як відомо, цей фермент каталізує перетворення гіпоксантину та ксантину на сечову кислоту, під час реакції як акцептор електронів використовує кисень з утворенням супероксидного радикала, останній є активним метаболітом кисню і спроможний викликати окисні пошко-

Таблиця 1 – Вплив поліфенольних комплексів вин, отриманих із винограду культурного, та етилового спирту на оксидантний статус гомогенату печінки та окиснювальну модифікацію білків сироватки крові щурів при емоційно-больовому стресі (M±m, n=6)

Показник	Інтакт		Стрес		Стрес+“Еноант”		Стрес+“Поліфен”	
	стійкі	нестійкі	стійкі	нестійкі	стійкі	нестійкі	стійкі	нестійкі
Каталаза, мкмоль Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub> /хв/мг білка	67,40±9,61	54,28±9,42	59,70±7,76	61,30±9,68	66,40±7,67**	40,76±9,23	101,52±13,61/**	75,89±29,30*
ІПЗ, ΔЕ/г	38,74±1,82	35,49±2,16	14,78±2,22*	11,79±1,08*	18,63±1,88**/**	15,99±1,50**/**	20,40±1,34**/**	18,66±1,52**/**
ДК, нмоль/г	12,32±1,36	11,32±0,70	14,70±0,88*	13,86±0,60*	13,58±0,74**/**	12,87±0,54**/**	13,48±0,62**/**	12,85±0,26**/**
КД+СТ, ΔЕ/г	10,98±1,52	15,74±1,42	14,40±1,07*	17,53±2,06	13,57±0,54*	13,39±1,67	11,44±1,56**	11,84±1,88**/**
МДА, нмоль/мг білка	0,13±0,04	0,19±0,03	0,26±0,03*	0,36±0,04*	0,21±0,02*	0,19±0,02**	0,28±0,03*	0,22±0,03**
КО, мкмоль/хв/мг білка	0,59±0,11	0,63±0,15	2,32±0,32*	1,92±0,24*	0,97±0,17**	0,94±0,13**	0,59±0,06**	0,85±0,09**
ОМБ, ΔЕ/мл сироватки крові	1,46±0,18	1,92±0,20	2,84±0,17*	3,15±0,21*	1,62±0,17**	2,34±0,26**	2,01±0,16**	2,34±0,33

Продовження табл. 1

Показник	Стрес+спирт		Стрес+“Каберне”		Стрес+“Ркацителі”	
	стійкі	нестійкі	стійкі	нестійкі	стійкі	нестійкі
Каталаза, мкмоль Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub> /хв/мг білка	129,82±11,20**/**	62,32±5,82	62,32±7,23	82,44±9,28*	24,78±5,52**/**	75,50±6,92*
ІПЗ, ΔЕ/г	16,98±0,66*	13,89±1,73*	24,40±2,92**/**	16,15±1,76**/**	26,67±1,62**/**	18,82±1,90**/**
ДК, нмоль/г	13,61±0,08**/**	13,20±0,58**/**	10,90±1,10**	15,00±2,12*	10,66±1,88**	14,32±1,62*
КД+СТ, ΔЕ/г	12,68±1,91	13,04±1,31**	14,20±2,02*	15,74±1,98	17,15±1,62*	16,04±1,78
МДА, нмоль/мг білка	0,55±0,08**/**	0,68±0,06**/**	0,15±0,02	0,28±0,04*	0,18±0,02	0,17±0,02**
КО, мкмоль/хв/мг білка	1,13±0,10**/**	2,68±0,60*	1,06±0,16**	1,08±0,11**	0,55±0,05**	0,53±0,12**
ОМБ, ΔЕ/мл сироватки крові	2,27±0,34	2,41±0,25	1,84±0,27**	2,14±0,23**	1,87±0,20**	1,77±0,20**

Примітка. \* – зміни достовірні (p≤0,05) відносно інтактних тварин;

\*\* – зміни достовірні (p≤0,05) відносно стресованих тварин.

дження біомолекул та ініціювати процеси перекисного окиснення ліпідів. Виходячи з цього, КО розглядають як одне з головних джерел утворення АМК, а інколи навіть вважають її основною системою утворення АМК в організмі. Тому зростання активності КО при емоційно-больовому стресі можна розглядати як одну з причин встановленого підвищення рівня вільнорадикального окиснення при іммобілізації щурів.

У групі тварин, які отримували розчин етилового спирту протягом 3-х тижнів до іммобілізації, накопичення продуктів ПОЛ відбувалось меншою мірою і не було відмічено достовірного збільшення рівня окиснювальних модифікацій білків (ОМБ) (табл. 1). Активність КО підвищувалась порівняно з контролем, що може свідчити про ушкодження клітин печінки, оскільки в літературі є дані про зростання активності КО при гепатитах [13].

Таким чином, отримані дані вказують на те, що введення щурам етилового спирту у вивченій дозі збільшує їх толерантність до стресу, але саме є несприятливим фактором, який може призвести до розвитку патологій печінки.

При попередньому введенні поліфенольних концентратів "Еноант" і "Полифен" та виноградних вин сортів "Каберне" та "Ркацителі" спостерігалась нормалізація оксидантного статусу, при цьому не підвищувались активність КО та кількість ОМБ (табл. 1). Попередження активації КО може пояснюватись здатністю поліфенолів пригнічувати активність даного

ферменту та протеолітичних ферментів, які перетворюють ксантиндегідрогеназу на ксантиноксидазу [12, 15]. Вивчені виноградні вина не поступалися за стрес-протекторною активністю поліфенольним концентратам, а деякі досліджені показники при їх дії були навіть ближчими за значеннями до контролю порівняно з поліфенольними концентратами.

**ВИСНОВКИ.** 1. Емоційно-больовий стрес, викликаний іммобілізацією щурів протягом 3 год, супроводжується активацією вільнорадикального окиснення, збільшенням вмісту окиснювальномодифікованих білків та активацією ксантиноксидази.

2. Введення щурам етилового спирту в дозі, що відповідає 0,43 мл спирту на 1 кг маси тіла людини, збільшує їх толерантність до стресу, але є несприятливим фактором, що може призвести до розвитку патологічних процесів у клітинах печінки.

3. Поліфенольні концентрати "Еноант" та "Полифен" у дозі, що відповідає 0,3 мл на 1 кг маси тіла людини, мають стрес-протекторну активність при емоційно-больовому стресі.

4. Виноградні вина сортів "Каберне" і "Ркацителі" в дозі, що відповідає 4,3 мл вина на 1 кг маси тіла людини, мають високу стрес-протекторну активність і не поступаються в цьому відношенні безалкогольним концентратам поліфенолів винограду, а компоненти вина у вивчених дозах попереджують негативні ефекти впливу етилового спирту.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Дубинина Е.Е., Бупмистров С.О., Ходов Д.А. // *Вопр. мед. Химии.* – 1995. – **41**, № 1. – С. 24-56.
2. Романова Л.А., Стальная И.Д. *Современные методы в биохимии* / Под ред. В.Н. Ореховича – М.: Медицина, 1977. – С. 64-66.
3. Соколова Е.Д., Березин Ф.Б., Барлас Т.В. *Эмоциональный стресс: психологические механизмы, проявление, терапия* // *Materia Medica.* – 1996. – **9**, № 1. – С. 5-56.
4. Сидорьяк Н.Г. *Изменения транспорта кислорода в организме при гемической гипоксии: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук.* – К., 1985. – 20 с.
5. *Справочник по лабораторным методам исследований* / Под ред. Л.А. Даниловой. – С.Пб.: Питер, 2003. – 736 с.
6. Строев Е.А., Макарова В.Г. *Практикум по биологической химии.* – М.: Высшая школа, 1986. – 231 с.
7. Сумбаев В.В., Розанов А.Я. Влияние кофеина на активность ксантиноксидазы // *Укр. биохим. журн.* – 1997. – **69**, № 5-6. – Р. 196-200.
8. Chopra M., Fitesimons P.E., Strain J.J. Nonalcoholic red wine extract and quercetin inhibit LDL oxidation without affecting plasma antioxidant capacity in humans // *Clin. Chem.* – 2000. – **46**, № 8. – Р. 1162-1170.
9. Chun-Mao Lin., Chien-Tsu Chen., Hsiao-Hui Lee. Prevention of cellular ROS damage by isovitexin and related flavonoids // *Planta Med.* – 2002. – **68**. – Р. 365-367.
10. Cos P., Ying L., Calomme M. Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers // *J. Nat. Prod.* – 1998. – **61**. – Р. 71-76.
11. Man-Ying C.M., Mattiacci M., Hwang H.S. Synergy between ethanol and grape polyphenolics quercetin and resveratrol in the inhibition of the

inducible nitric oxide synthase pathway // 2000. – 60, № 10. – P. 1539-1548.

12. Mantle D., Falkous G., Perry E.K. Effect of flavonoids on protease activities in human skeletal muscle in vitro // Clin. Chim. Acta. – 1999. – 285, № 1-2. – P. 13-20/

13. Middleton E., Kandaswami G., Theoharides T.G. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer // Pharm. Reviews. – 2000. – 4. – P. 673-751.

14. Osman H.E. Maalej N., Shanmuganayagam D., Folts J.D. Grape juice but not orange or grapefruit juice inhibits platelet activity in dogs and monkeys // Nutrition. – 1998. – 128. – P. 2307-2312.

15. Saksela M., Lapatto R., Raivio K.O. Irreversible conversion of xanthine dehydrogenase into xanthine oxidase by a mitochondrial protease // FEBS Lett. – 1999. – 443, № 2. – P. 117-120.

16. Serafini M., Maiami G., Ferro-Luzzi A. Alcoholic-free red wine enhances plasma antioxidant capacity in humans // Nutrition. – 1998. – 128. – P. 1003-1004.

## ВЛИЯНИЕ ВИНОГРАДНЫХ ВИН И ИХ КОМПОНЕНТОВ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ, КОЛИЧЕСТВО ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ МОДИФИКАЦИЙ БЕЛКОВ И АКТИВНОСТЬ КСАНТИНОКСИДАЗЫ ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ У КРЫС

Л.Н. Воронина<sup>1</sup>, А.Л. Загайко<sup>1</sup>, А.А. Самохин<sup>1</sup>, Ю.А. Огай<sup>2</sup>  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ<sup>1</sup>  
ИНСТИТУТ ВИНОГРАДА И ВИНА "МАГАРАЧ", ЯЛТА<sup>2</sup>

### Резюме

Проведено сравнительное исследование влияния полифенольных концентратов и вин, полученных из винограда культурного, и раствора этилового спирта на перекисное окисление липидов, количество окислительных модификаций белков и активность ксантиноксидазы при иммобилизационном стрессе у крыс. Установлено, что исследуемые вина и полифенольные концентраты эффективно предупреждают развитие оксидативного стресса и активацию ксантиноксидазы при иммобилизации животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: вино, иммобилизационный стресс, перекисное окисление липидов, антиоксиданты, окислительная модификация белков, ксантиноксидаза.

## INFLUENCE OF GRAPE WINES AND THEIR COMPONENTS ON LIPID PEROXIDATION, AMOUNT OF PROTEIN OXIDATIVE MODIFICATIONS AND XANTHINE OXIDASE ACTIVITY UNDER IMMOBILIZATION STRESS IN RATS

L.M. Voronina<sup>1</sup>, A.L. Zagayko<sup>1</sup>, A.O. Samokhin<sup>1</sup>, Y.O. Ogay<sup>2</sup>  
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV<sup>1</sup>  
INSTITUTE OF GRAPE AND WINE "MAGARACH", YALTA<sup>2</sup>

### Summary

Comparative study of polyphenol substances and wines obtained from grape and ethanol solution influence on lipid peroxidation, protein oxidative modification level and xanthine oxidase activity has been carried out under immobilization stress in rats. It was found out that the investigated wines and polyphenolic concentrates prevent effectively the development of oxidative stress xanthine oxidase activity under immobilization of animals.

KEY WORDS: wine, immobilization stress, lipid peroxidation, antioxidants, protein oxidative modification, xanthine oxidase.

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



## ВПЛИВ ІНГІБІТОРА ІНДУЦИБЕЛЬНОЇ СИНТАЗИ ОКСИДУ АЗОТУ N-(3-(АМІНОМЕТИЛ)БЕНЗИЛ)АЦЕТАМІДИНУ НА ГЕПАТОТОКСИЧНІСТЬ АЛІЛОВОГО СПИРТУ

М.М. Корда, Т.Я. Ярошенко

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

*Вплив селективного інгібітора iNOS N-(3-(амінометил)бензил)ацетамідину (1400W) на перебіг токсичного гепатиту, викликаного введенням щурам алілового спирту, було досліджено за зміною активності АлАТ і АсАТ у плазмі крові. 1400W, введений тваринам за 30 хв до інтоксикації аліловим спиртом, попереджував підвищення активності маркерних ферментів цитолізу в крові та частково запобігав зменшенню вмісту відновленого глутатіону в печінці. Встановлено, що зниження токсичного ефекту алілового спирту відбувалося не у зв'язку зі зміною його метаболізму, оскільки 1400W не впливав на активність алкогольдегідрогенази.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: аліловий спирт, 1400W, оксид азоту, щури.

**ВСТУП.** Аліловий спирт (АС) – токсин, що викликає некроз печінки. Відомо, що у печінці аліловий спирт метаболізується під впливом алкогольдегідрогенази до акролеїну [2]. Останній здатний окиснювати сульфгідрильні групи, при цьому в процес втягується відновлений глутатіон, що призводить до різкого зниження його вмісту в клітинах [5].

За даними літератури, алкілування нуклеофільних груп макромолекул, викликане акролеїном, є основною причиною пошкодження клітин аліловим спиртом [6]. Проте є також повідомлення, що важливу роль у некрозі клітин під впливом алілового спирту відіграє активація ліпідної пероксидації [8]. Акролеїн знижує вміст відновленого глутатіону в гепатоцитах і тим самим підвищує чутливість клітин до активних форм кисню.

Недавно було продемонстровано, що аміногуанідин, відносно селективний інгібітор індукцибельної форми синтази оксиду азоту (iNOS), позитивно впливає на перебіг токсичного гепатиту, індукованого ацетамінофеном [9] і тіоацетамідом [3] (двома глутатіонзнижуючими чинниками). У цих роботах показано, що NO є важливим медіатором гепатотоксичності й зміна його продукції за умов отруєння гепатотоксинами призводить до патологічного стану. Інше дослідження [7] дозволило зробити висновок, що NOS відіграє важливу роль у

розвитку цирозу печінки, індукованого тетра-хлорметаном.

Метою нашої роботи було дослідити захисну роль високоселективного інгібітора iNOS N-(3-(амінометил)бензил)ацетамідину (1400W) у перебізі токсичного гепатиту, викликаного аліловим спиртом.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Досліди проведено на нелінійних білих щурах-самцях масою 180-200 г, яких утримували у звичайних умовах віварію. Піддослідних тварин було поділено на 3 групи: 1-ша – інтактні, 2-га – контрольні (уражені АС), 3-тя – АС+1400W.

АС вводили тваринам 2-ї і 3-ї груп у дозі 30 мг/кг маси щура внутрішньоочеревинно одноразово. Інтактні тварини отримували фізіологічний розчин в ідентичному об'ємі. 1400W вводили одноразово внутрішньоочеревинно за 30 хв до ін'єкції гепатотоксину в дозі 1,5 мг/кг. Через добу після введення АС і 1400W щурів декапітували під тіопенталовим наркозом.

Досліджували плазму крові та гомогенат печінки. У плазмі визначали активність АлАТ і АсАТ (за загальноприйнятою методикою, використовуючи комерційний комплект реактивів). У гомогенаті печінки – вміст відновленого глутатіону [4] і активність алкогольдегідрогенази [1].

Результати досліджень піддавали статистичній обробці, використовуючи критерій Стьюдента.

© М.М. Корда – д.мед.н., проф., Т.Я. Ярошенко, 2004.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Отруєння тварин АС у дозі 30 мг/кг призводило до достовірного підвищення активності маркерних ферментів некрозу гепатоцитів – АлАТ і АсАТ (табл. 1). Разом із тим дана доза АС викликала майже 40 % зниження рівня відновленого глутатіону в гепатоцитах порівняно з інтактними щурами. Введення тваринам 1400W перед інтоксикацією достовірно попереджувало зменшення вмісту глутатіону в печінці й призводило до суттєвого зниження активності АлАТ і АсАТ, що свідчить про протективну роль інгібітора іNOS при ураженні печінки аліловим спиртом. Було також виявлено, що активність печінкової алкогольдегідрогенази не змінювалася в отруєних щурів і введення 1400W також суттєво на неї не впливало.

NO може продукуватися ферментом NO-синтазою з L-аргініну в паренхімі печінки і непаренхімальними клітинами. Відомо, що NO є високореактивним оксидантом. Він може реагувати із супероксиданіонрадикалом, приносячи до утворення пероксинітриду і започатковуючи тим самим радикальні реакції в клітині. Гіперпродукція NO спостерігається при тетрахлорметановому гепатиті та інших моделях токсичного ураження печінки [3, 7,9] і може розглядатися як важливий регуляторний фактор гепатотоксичності ксенобіотиків.

Аліловий спирт, метаболізуючись у печінці, призводить до утворення реактивного метаболіту акролеїну. Зниження вмісту відновленого глутатіону, яке ми спостерігали після введення токсину, може бути наслідком токсичного впли-

Таблиця 1 – Вплив N-(3-(амінометил)бензил)ацетамідину на показники активності амінотрансфераз у плазмі крові, вмісту відновленого глутатіону й активності алкогольдегідрогенази у печінці щурів, отруєних аліловим спиртом

Група тварин	Показники			
	АлАТ, ммоль/л·год	АсАТ, ммоль/л·год	Відновлений глутатіон, μмоль/г	Алкоголь-дегідрогеназа, μмоль/хв г
Інтактні	0,46±0,02	0,38±0,03	3,81±0,25	2,80±0,26
Контрольні (АС)	4,16±0,28*	2,90±0,22*	2,20±0,18*	2,68±0,30
АС+1400W	1,90±0,15**	1,58±0,13**	2,95±0,28**	2,70±0,38

Примітка. \* – зміни достовірні порівняно з показниками інтактних тварин;  
\*\* – зміни достовірні порівняно з показниками контрольних щурів.

ву акролеїну на сульфгідрильні групи. Зменшення концентрації відновленого глутатіону зумовлює до послаблення антиоксидного захисту клітини до такого рівня, що NO, який продукується іNOS печінкових макрофагів у відповідь на інтоксикацію, може викликати пошкодження паренхіми печінки. Це призводить до підвищення активності амінотрансфераз в плазмі крові. Введення тваринам селективного інгібітора іNOS попереджує гіперпродукцію NO купферівськими клітинами і в результаті запобігає пошкодженню гепатоцитів активними радикалами.

Трансформація алілового спирту в токсичний акролеїн каталізується цитозольною

алкогольдегідрогеназою. Щоб зрозуміти механізм протективної дії 1400W, ми визначали його вплив на активність цього ферменту. Відсутність достовірного ефекту 1400W на активність алкогольдегідрогенази свідчить про те, що захисний ефект інгібітора іNOS при інтоксикації аліловим спиртом не пов'язаний з його інгібуючою дією на даний фермент.

**ВИСНОВОК.** Інгібітор індукцйбельної NO-синтази N-(3-(амінометил)бензил)ацетамідин позитивно впливає на перебіг токсичного ураження печінки, викликаного некрозогенним гепатотоксином – аліловим спиртом.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Aasmoe L., Aarbakke J. Sex-dependent induction of allyl alcohol dehydrogenase activity in rats // *Biochem. Pharmacol.* – 1999. – **57**. – P. 1067-1072.  
2. Belinsky S.A., Bradford B.U. Hepatotoxicity due to allyl alcohol in deermice depends on alcohol dehydrogenase // *Hepatol.* – 1985. – **5**. – P. 1179-1182.

3. Diez-Fernandes C., Sanz N., Alvarez A.M. Influence of aminoguanidine on parameters of liver injury // *Br. J. Pharmacol.* – 1998. – **125**. – P. 102-108.  
4. Ellman G. Tissue sulfhydryl groups // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1959. – **82**. – P. 70-76.  
5. Hanson S.K., Anders M.V. Effect of diethyl

maleate treatment, fasting and time of administration on allyl alcohol hepatotoxicity // *Toxicol. Lett.* – 1988. – **1**. – P. 1-305.

6. Ohno Y., Ormstad K., Ross D. Mechanism of allyl alcohol toxicity and protective effect of low molecular weight thiols // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 1985. – **68**. – P. 169-179.

7. Ortiz M.C., Fortepiani L.A., Martinez C. Renal and pressure effects of aminoguanidine in chronic rats

with ascites // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 1996. – **7**. – P. 2694-2699.

8. Miccadei S., Nakae D., Kyle M.E. Oxidative cell injury in the killing of cultured hepatocytes by allyl alcohol // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1988. – **265**. – P. 302-310.

9. Misko T.P., Moore W.M., Kasten T.P. Selective inhibition of the inducible nitric oxide synthase by aminoguanidine // *Eur. J. Pharmacol.* – 1998. – **233**. – P. 119-125.

## ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА ИНДУЦИБЕЛЬНОЙ СИНТАЗЫ ОКСИДА АЗОТА N-(3-(АМИНОМЕТИЛ)БЕНЗИЛ)АЦЕТАМИДИНА НА ГЕПАТОТОКСИЧНОСТЬ АЛЛИЛОВОГО СПИРТА

**М.М. Корда, Т.Я. Ярошенко**

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

### Резюме

Влияние селективного ингибитора *i*NOS N-(3-(аминометил)бензил)ацетамидина (1400 W) на протекание токсического гепатита, вызванного введением крысам аллилового спирта, было исследовано по изменению активности АлАТ и АсАТ в плазме крови. 1400W, введенный животным за 30 мин до интоксикации аллиловым спиртом, предупреждал повышение маркерных ферментов цитолиза в крови и частично предотвращал уменьшение содержания восстановительного глутатиона в печени. Установлено, что снижение токсического эффекта аллилового спирта происходит не в связи с изменением его метаболизма, так как 1400W не влиял на активность алкогольдегидрогеназы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: аллиловый спирт, 1400W, оксид азота, крысы.

## THE EFFECT OF INHIBITOR OF INDUCIBLE SYNTHASE OF NITRIC OXIDE N-(3-(AMINOMETHYL)BENZYL)ACETAMIDINE ON HEPATOTOXICITY OF ALLYL ALCOHOL

**M.M. Korda, T.Ya. Yaroshenko**

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

### Summary

The effect of N-(3-(aminomethyl)benzyl)acetamide (1400W) (a selective inhibitor of *i*NOS) on allyl alcohol-induced liver injury was assessed by the measurement of serum ALT and AST activities. When 1400W was administered to rats 30 min before a toxic dose of allyl alcohol significant changes related to liver damage were observed. In the presence of 1400W the levels of ALT and AST were significantly decreased. Depletion of the reduced glutathione level as a result of allyl alcohol metabolism was partially prevented by 1400W. It was found that the inhibition of toxicity was not due to alteration in allyl alcohol metabolism as 1400W didn't affect alcohol dehydrogenase activity.

KEY WORDS: allyl alcohol, 1400W, nitric oxide, rats.

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

## ІНТЕНСИВНІСТЬ МЕТАБОЛІЧНИХ ПРОЦЕСІВ ОРГАНІЗМУ В ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО ЕНЦЕФАЛОМІЄЛІТУ

А.М. Гольцев, С.Є. Овсянніков, Ю.О. Козлова, М.М. Бабенко, Ю.В. Нікітченко<sup>1</sup>

ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ НАН УКРАЇНИ, ХАРКІВ

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В.Н. КАРАЗІНА<sup>1</sup>

*Представлено результати вивчення показників інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів та ферментів антиоксидантної системи організму щурів на моделі експериментального алергічного енцефаломієліту (ЕАЕ) як аналога розсіяного склерозу (РС) людини. Отримані дані можуть бути використані в клінічній практиці з метою оптимізації методів лікування РС, зокрема продуктами ембріофетоплацентарного комплексу.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** перекисне окиснення ліпідів, експериментальний алергічний енцефаломієліт, антиоксидантні ферменти.

**ВСТУП.** У широкому спектрі патологічних станів організму людини автоімунні захворювання (АІЗ) займають одне з провідних місць і можуть розвиватися практично в усіх його органах і тканинах. На сьогодні широко вивчається стан імункомпетентної сфери при розвитку експериментального алергічного енцефаломієліту (ЕАЕ), разом із тим, дані про особливості впливу вільнорадикальних реакцій при цій патології є суперечливими [1, 6]. Даний факт підкреслює необхідність проведення фундаментальних досліджень з метою вивчення перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантної системи (АОС) в "зацікавлених" органо-тканинних структурах, зокрема мозку і печінці щурів, у динаміці розвитку ЕАЕ. Аналіз кореляції між імунологічними, клінічними і біохімічними показниками ЕАЕ був проведений нами в попередніх роботах [1]. Найважливішою ланкою багаторівневої системи антиоксидантного захисту є так званий глутатіоновий редокс-цикл [4]. Ферменти, що беруть участь у його роботі, відновлюють ненасичені жирні кислоти (НЖК) у їхні гідропхідні, використовуючи відновлений глутатіон (ГТ) як донора відновлюючих еквівалентів. Метою даної роботи була оцінка стану ферментативної АОС за активністю глутатіонпероксидази (ГПО) і

глутатіонредуктази (ГР) на тлі зміни інтенсивності ПОЛ у динаміці розвитку ЕАЕ. Такі дослідження необхідні насамперед для розробки нових підходів і оптимізації методів лікування цих захворювань у клінічній практиці.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Експерименти було проведено на білих безпородних щурах-самцях масою 150-180 г. Усі маніпуляції з ними виконано відповідно до Міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1985). ЕАЕ індукували шляхом введення у подушечки лап щурів гомогенату алогенної тканини спинного мозку, емульгованого у повному ад'юванті Фрейнда за методом [2]. Контролем була група тварин, яким вводили фізіологічний розчин. Декапітацію щурів проводили під легким ефірним наркозом на 7-му, 14-му, 21-му, 28-му доби після імунізації. Рівень ПОЛ визначали в гомогенатах печінки і головного мозку за вмістом гідроперекисів ліпідів (ГПЛ) [1]. Активності ГПО і ГР визначали, як описано [5]. Статистичну обробку даних проводили, використовуючи комп'ютерну програму "Excel".

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Представлені на рисунку 1. результати показують, що в динаміці розвитку ЕАЕ має місце зміна інтенсивності ПОЛ і ферментів АОС. При цьому

© А.М. Гольцев, С.Є. Овсянніков, Ю.О. Козлова, М.М. Бабенко, Ю.В. Нікітченко, 2004.

на етапі доклінічного прояву захворювання (7-ма доба) у печінці й мозку дані зміни мали односпрямований характер. Дворазове підвищення активності ГПО і ГР, порівняно з контролем, не призводило до зниження вмісту ГПЛ у печінці й мозку. Даний факт узгоджується з положеннями сучасних концепцій про регуляторну роль ГПЛ у праймінгу імунокомпетентних клітин [3]. Разом із цим, на наступних етапах розвитку захворювання спрямованість вище зазначених показників мала протилежний характер, що може визначатися локалізацією осередку запалення при цьому АІЗ і фізіологічними функціями органів. Так, у мозку активність ГПО після зниження на 14-ту добу до контрольних значень продовжувала зменшуватися і до 28-ї доби була нижчою їх (рис. 1а). Подібним чином змінювалася й активність ГР. На 14-ту і 21-шу доби рівень ГПЛ знижувався порівняно із 7-ю добою, залишаючись при цьому вищим контрольних значень, і тільки на

28-му добу вміст ГПЛ був меншим контролю. У мозку вміст ГПЛ на піку клінічної маніфестації патології (14-а і 21-а доба) був достовірно нижчим контролю, але на 28-му добу знову збільшувався. Дані зміни, можливо, пов'язані з виснаженням субстратів ГПО, викликаним виходом їх з мозку в лікворний струмінь. На користь цього твердження свідчить картина змін у печінці як органі, що відповідає за процеси детоксикації організму в цілому, де активність ГПО на етапі клінічного прояву ЕАЕ мала протилежну спрямованість до накопичення ГПЛ (рис. 1б). Зниження активності ГР як у печінці, так і в мозку на 21-шу і 28-шу доби, можливо, визначається зменшенням активності системи продукування НАДФН, головним чином дегідрогеназ циклу трикарбонових кислот і пентозофосфатного шунта, а також конкуренцією з нею за НАДФН ГПО. Збереження високої активності останньої, очевидно, пов'язане з ініціацією синтезу глутатіону de novo [4].

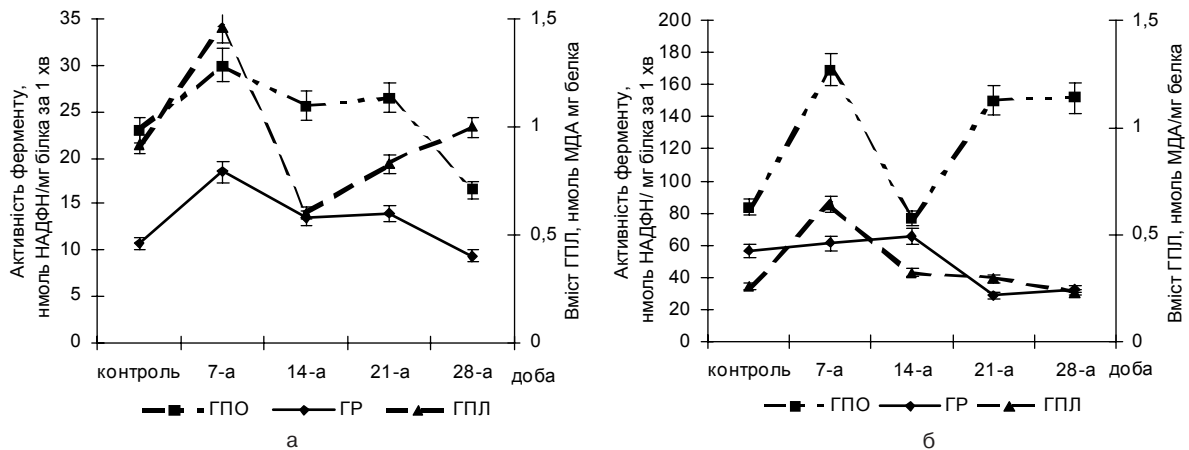


Рис. 1. Динаміка змін вмісту ГПЛ, ГПО та ГР у гомогенатах мозку (а) та печінки (б) щурів з ЕАЕ.

**ВИСНОВКИ.** Виявлено тканиноспецифічні особливості характеру змін активності ключових ферментів АОС – ГПО і ГР – на тлі змін інтенсивності ПОЛ у динаміці розвитку ЕАЕ. Факт підвищення вмісту ГПЛ у вивчених тканинах на етапі доклінічних проявів захворювання узгоджується з положеннями вищезгаданої концепції Клебанова і співавт. [3]. Однак цілком імовірно, що на 7-му добу розвитку ЕАЕ

рівень вмісту ГПЛ перевищує значення, необхідні для виконання ними регуляторної функції активації імунної системи, про що свідчить зміна клінічних і біохімічних показників на наступних етапах розвитку патології, які можуть визначатися токсичним впливом кінцевих продуктів ПОЛ. Отримані дані можуть бути використані в клінічній практиці для оптимізації методів лікування РС, зокрема продуктами ембріофетоплацентарного комплексу.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Гольцев А.Н., Козлова Ю.А., Бабенко Н.Н. и др. Особенности изменения иммунологических и биохимических показателей организма крыс с экспериментальным аллергическим энцефаломиелитом // Пробл. криобиол. – 2004. – № 1. – С. 41-50.
2. Давыдова Г.С. Применение адьюванта с

различным количеством БЦЖ для воспроизведения ЭАЭ у крыс // Острый энцефаломиелит в эксперименте и клинике. – Минск: Наука и техника, 1969. – С. 32-37.

3. Клебанов Г.И., Чичук Т.В., Владимиров Ю.А. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения



на пероксидацию мембранных липидов и концентрацию ионов кальция в цитозоле фагоцитов // Биол. мембраны. – 2001. – **18**, № 1. – С. 42-51.

4. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Структура, свойства, биологическая роль и регуляция глутатионпероксидазы // Усп. современ. биологии. – 1993. **113**, № 1. – С. 107-122.

5. Лемешко В.В., Никитченко Ю.В., Свич И.В. и др. Перекисное окисление липидов биомембран и его ферментативная регуляция при старении крыс // Укр. биохим. Журнал. – 1987. – **59**, № 2. – С. 50-57.

6. Соколова Л.И., Юрженко Н.М., Брюзгина Т.С. Липопероксидація у хворих на розсіяний склероз // Фізіол. журнал. – 1997. – **43**, № 3-4. – С. 86-92.

## ИНТЕНСИВНОСТЬ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ОРГАНИЗМА В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЛЕРГИЧЕСКОГО ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТА

**А.Н. Гольцев, С.Е. Овсянников, Ю.А. Козлова, Н.Н. Бабенко, Ю.В. Никитченко<sup>1</sup>**  
ИНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРИОБИОЛОГИИ И КРИОМЕДИЦИНЫ НАН УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ  
ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. В.Н. КАРАЗИНА<sup>1</sup>

### Резюме

*Представлены результаты изучения показателей интенсивности перекисного окисления липидов и ферментов антиоксидантной системы организма крыс на модели экспериментального аллергического энцефаломиелита (ЭАЭ) как аналога рассеянного склероза (РС) человека. Полученные данные могут быть использованы в клинической практике для оптимизации методов лечения РС, в частности продуктами эмбриофетоплацентарного комплекса.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** перекисное окисление липидов, экспериментальный аллергический энцефаломиелит, антиоксидантные ферменты.

## INTENSITY OF ORGANISM'S METABOLIC PROCESSES IN DYNAMICS OF EXPERIMENTAL ALLERGIC ENCEPHALOMYELITIS DEVELOPMENT

**A.M. Holtsev, S.E. Ovsyannikov, Yu.O. Kozlova, M.M. Babenko, Yu.V. Nikitchenko<sup>1</sup>**  
INSTITUTE FOR PROBLEMS OF CRYOBIOLOGY AND CRYOMEDICINE OF NAS OF UKRAINE, KHARKIV  
KHARKIV NATIONAL UNIVERSITY BY V.N. KARAZIN<sup>1</sup>

### Summary

*The investigation results of lipid peroxidation and the enzymes of antioxidant system of rat organism in the model of experimental allergic encephalomyelitis (EAE) as the analogue of human multiple sclerosis (MS) are shown. The data obtained can be used in clinical practice for optimization of MS treatment method, partly by products of embryofetoplacental complex.*

**KEY WORDS:** lipid peroxidation, experimental allergic encephalomyelitis, antioxidant enzymes.

**Адреса для листування:** Ю.В. Нікітченко, Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, 61077, Україна.

## ВПЛИВ ІОНІЗУВАЛЬНОГО ОПРОМІНЕННЯ НА РОЗВИТОК БІОХІМІЧНИХ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПОРУШЕНЬ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ БРОНХІТ

О.А. Харченко, О.А. Лихолат, Л.І. Шантир

УКРАЇНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ НДІ МЕДИКО-СОЦІАЛЬНИХ ПРОБЛЕМ ІНВАЛІДНОСТІ,  
ДНІПРОПЕТРОВСЬК

*В осіб, хворих на хронічний бронхіт, які були опромінені під час ліквідації наслідків Чорнобильської катастрофи, дисбаланс біохімічного гомеостазу та функціональні порушення виражені більшою мірою. Інтерес викликають механізми, що відрізняються від характерних для хронічних неспецифічних захворювань легень. Іонізувальне опромінення в малих дозах здійснює прямий негативний ефект на легеневу тканину та нервову систему з посиленням патологічних змін внаслідок взаємодії декількох патогенетичних механізмів, таких, як високий ступінь розвитку метаболічного ацидозу, ендогенної інтоксикації, маніфестації вільнорадикальних процесів на тлі виснаження антиоксидантного захисту, значна активація протеолітичної системи.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** біохімічний гомеостаз, функціональні порушення, хронічний бронхіт, іонізувальне опромінення.

**ВСТУП.** Спостерігаються високі показники первинної та накопиченої інвалідності серед чорнобильського контингенту, які значно перевищують аналогічні в осіб, що не зазнали радіаційного впливу. В опроміненіх осіб перебіг клінічних проявів захворювання атипичний, стертий, з розвитком функціональних порушень різного ступеня вираження на тлі аутоімунних зсувів. Зниження антиоксидантного захисту, дисбалансу обмінних та гормональних процесів, психічних і астеноневротичних станів знижує толерантність до психоемоційних і фізичних навантажень. Усе це впливає на стан життєдіяльності й призводить до погіршення чи зриву адаптаційно-компенсаторних можливостей, швидкої та передчасної інвалідності чорнобильців, яка є тяжчою, ніж у інших категорій населення. Відмічені негативні тенденції вказують на необхідність нового підходу до трактування патогенезу хронічних обструктивних захворювань легень у осіб, які віднесені до групи підвищеного радіаційного ризику.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Беручи до уваги, що дихальні шляхи та легені є одними з основних тканин-мішеней, відповідальних за роз-

© О.А. Харченко, О.А. Лихолат, Л.І. Шантир, 2004.

виток променевої патології при впливі іонізуючого опромінення, проведено дослідження комплексу біохімічних показників, які характеризують основні ланки метаболізму в 137 пацієнтів (чоловіків 40-49 років), з хронічним обструктивним бронхітом (ХОБ), 63 з яких брали участь у ліквідації наслідків Чорнобильської катастрофи в 1986-1988 рр. Середня доза опромінення склала 0,25 Гр.

Хворих було розподілено на групи: особи, які не були експоновані іонізуючим опроміненням, та опромінені пацієнти. 30 здорових чоловіків відповідного віку включили до контрольної групи.

Визначали показники біохімічного гомеостазу (ліпідного, вуглеводного, білкового, електролітного обмінів) за уніфікованими методиками [2], а також вільно-радикальних [3] і протеолітичних процесів [1] у сироватці крові. Отримані результати були оброблені статистично за загальноприйнятими методиками [4].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Як свідчать результати аналізу показників білкового обміну у хворих на ХОБ залежно від фази активності процесу, для всіх груп виявлено тип протеїнограм, який характерний для хронічного

запалення. Інваліди-ліквідатори мали однотипний, але більш виражений зсув у протейнограмі, ніж група порівняння. Зіставлення показників системи гемостазу за ХОБ вказувало на розвиток латентного синдрому десимінованого внутрішньосудинного згортання крові. Для хворих-чорнобильців характерна гіпокоагуляція. Можливе припущення, що у хворих, які зазнали опромінення в низьких дозах, і групі порівняння в розбалансуванні системи гемостазу залучено різні механізми. У хворих на ХОБ визначається дисліпопротеїнемія IV типу. В опромінених осіб виявлено схильність до розвитку атеросклеротичних змін. Спостерігалась різнонаправленість змін в електролітному обміні у пацієнтів, які експоновані та не експоновані іонізуючим опроміненням. За розвитку ХОБ має місце достовірне накопичення показників дезорганізації сполучної тканини – глікопротеїнів, гексоз, серомукоїдів, молекул середньої маси. Радіаційний вплив посилює метаболічні пошкодження, викликані хворобою. Спостерігається маніфестація вільнорадикальних процесів у біомембранах, що призводить до редукції активності В-адренергічних структур легень.. У всіх хворих підвищений рівень ТБКАП. Однак у пацієнтів з групи порівняння паралельно активації процесу в сироватці крові зростає концентрація церулоплазміну, одного з основних позаклітинних антиоксидантів, що деякою мірою обмежує пероксидацію ліпідів. У ліквідаторів інтенсифікація вільнорадикальних процесів більша на тлі зменшення вмісту церулоплазміну. В цих пацієнтів нижчий індекс загальної антиокисної активності. При загостренні запального процесу відбувається підвищення протеолітичної активності сироватки крові за одночасної інгібіції  $\alpha_1$ -антитрипсину і  $\alpha_2$ -макроглобуліну. Цей феномен також характерний для опромінених осіб, до того ж, посилення протеолітичних процесів у них більш виражене.

Розвиток ендотоксикозу, інтенсифікація вільнорадикальних та протеолітичних процесів призводять до порушень на різних рівнях (клітинному, органному, організменному) що негативно впливає не лише на функціонування легеневої тканини, але й функції інших органів і систем, спричиняє сильний нейротоксичний

ефект. На основі комп'ютерної ЕЕГ та викликаних зорових потенціалів (ЗВП) дано оцінку функціонального стану центральної нервової системи у 96 хворих на ХОБ з вираженою дихальною недостатністю. Зміни ЕЕГ визначаються у 98 % пацієнтів. У спектрі потужності ЕЕГ зникає домінуючий пік у ділянці альфаритму, і спектр сплющується на всіх основних частотах, що підтверджує десинхронізацію активності нейронів, обумовлену гіпоксією мозку, яка виникає за порушень гіпервентиляційної функції легень. Особливості ЕЕГ підтверджуються деяким підвищенням середньота довголатентних компонентів ЗВП (П2, П3, Н3, Н4), зниженням амплітуди коркової відповіді в когнітивній фазі, що свідчить про погіршення процесів обробки інформації, що надходить, перш за все, в неспецифічних коркових структурах. За інтенсифікації запального процесу у 75 % хворих визначається ваготоксична реактивність вегетативної нервової системи, в той час як в стадії ремісії ваготонус спостерігався у 50 % випадків. Дисрегуляторні ерго-та трофотрофні функції ВНС були характерні для більшості обстежених пацієнтів (майже у 83 % випадків). У хворих на ХОБ розвивався спастико-атонічний синдром. У пацієнтів, експонованих іонізуючим опроміненням, визначався спастичний синдром. Ваготонус виявлено у 87 % опромінених осіб. Визначені розлади нервової системи призводять до порушень інтегративних сигнальних систем, що відбивається на функціонуванні легень та розвитку загальної системної патології.

**ВИСНОВКИ.** В осіб, які зазнали впливу іонізуючого опромінення під час ліквідації наслідків Чорнобильської катастрофи і хворіють на ХОБ, дисбаланс біохімічного гомеостазу виражений більшою мірою. Низькі дози іонізуючого опромінення посилюють патологічні зміни внаслідок взаємодії декількох патогенетичних механізмів легеневого, судинного і нейромедіаторного походження, що вказує на необхідність подальшого вивчення взаємозв'язків між впливом низькодозового опромінення і реакцією легеневої тканини залежно від тривалості експозиції, дози, біорезистентності та індивідуальної чутливості.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Карягина И.Ю., Зарембский Р.А., Баляби-на М.Д. Использование метода комплексного определения активности трипсиноподобных протеиназ,

$\alpha_1$ -антитрипсина и  $\alpha_2$ -макроглобулина в гастроэнтерологической практике // Лаб. дело. – 1990. – № 2. – С. 10-13.

2. Колб В.С., Камышников В.Н. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – 464 с.  
3. Коробейникова Э.Н. Модификация метода

определения ТБК-активных продуктов Лаб. дело. - 1989. – № 7. – С. 8-9.

4. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 293 с.

## ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ОБЛУЧЕНИЯ НА РАЗВИТИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ БРОНХИТОМ

**О.А. Харченко, Е.А. Лихолат, Л.И. Шантырь**

УКРАИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НИИ МЕДИКО-СОЦИАЛЬНЫХ ПРОБЛЕМ ИНВАЛИДНОСТИ, ДНЕПРОПЕТРОВСК

### Резюме

*У больных хроническим бронхитом, облученных во время ликвидации последствий Чернобыльской катастрофы, дисбаланс биохимического гомеостаза и функциональные нарушения выражены в большей степени. Представляют интерес механизмы, которые отличаются от характерных для хронических неспецифических заболеваний легких. Ионизирующее облучение в малых дозах осуществляет прямой негативный эффект на легочную ткань и нервную систему с усилением патологических изменений вследствие взаимодействия нескольких патогенетических механизмов, таких, как высокая степень развития метаболического ацидоза, эндогенной интоксикации, манифестация свободнорадикальных процессов на фоне истощения антиоксидантной защиты, значительная активация протеолитической системы.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** биохимический гомеостаз, функциональные нарушения, хронический бронхит, ионизирующее облучение.

## INFLUENCE OF IONIZING RADIATION ON DEVELOPMENT OF BIOCHEMICAL AND FUNCTIONAL VIOLATIONS AT THE PATIENTS WITH CHRONIC BRONCHITIS

**O.A. Kharchenko, O.A. Lykholat, L.S. Shantyr**

UKRAINIAN STATE INSTITUTE OF MEDICAL AND SOCIAL PROBLEMS OF DISABILITY, DNIROPETROVSK

### Summary

*In the patients with chronic bronchitis exposed to ionising radiation owing to participation in clear up work of Chernobyl accident consequences the imbalance of biochemical homeostasis and functional disorders were expressed in the greater degree. Mechanisms, which differ from characteristic for chronic non-specific pulmonary diseases, are of great interest. Ionizing radiation in small doses has direct negative effect on lung tissue and nervous system with increase of pathologic changes as a result of interaction of some pathogenetic mechanisms. Among them high level of metabolic acidosis development, endogenous intoxication, manifestation of free-radical processes against a background of lowering of anti-oxidant defence, significant activation of proteolytic system.*

**KEY WORDS:** biochemical homeostasis, functional disorders, chronic bronchitis, ionizing radiation.

**Адреса для листування:** О.А. Харченко, Український державний НДІ медико-соціальних проблем інвалідності, Дніпропетровськ, Україна.

## МЕТАБОЛІЧНА ДЕТЕРМІНАЦІЯ СТАТЕВИХ ВІДМІННОСТЕЙ У ЗНЕБОЛЮВАЛЬНІЙ ДІЇ ТА ТОКСИЧНОСТІ ПАРАЦЕТАМОЛУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

**Н.І. Волощук**

*ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА*

*В експериментах на щурах досліджено гендерні відмінності в знеболювальному ефекті, а також гепато- та нефротоксичності парацетамолу. Встановлено, що анальгезивна дія на моделі електричного подразнення була виражена сильніше і тривала довше у щурів-самок. Самці були більш схильними до гепатотоксичності, а самки – до нефротоксичності парацетамолу.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** парацетамол, статеві відмінності, знеболювальна дія, токсичність.

**ВСТУП.** Токсичність парацетамолу характеризується значною індивідуальною варіабельністю [7] і великою мірою є наслідком утворення в процесі біотрансформації токсичних метаболітів. Відомо, що експресія метаболічних ферментів переважно має секс-специфічний характер, що зумовлює статеві відмінності в метаболізмі лікарських засобів. Так, наприклад, у печінці чоловіків реєструється вища активність УДФ-глюкуронілтрансферази щодо парацетамолу, ніж у жінок [6], а у чоловіків елімінація парацетамолу відбувається швидше, ніж у жінок [5].

Метою дослідження було визначити метаболічні основи статевих відмінностей у фармакологічному ефекті та токсичності парацетамолу в щурів.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідіть проведено на 122 щурах обох статей. Статевий цикл самок визначали за допомогою вагінальних мазків. У дослід самок брали у фазі проєструсу. Знеболювальний ефект парацетамолу визначали на моделі електричного подразнення слизової оболонки прямої кишки. Препарат у шлунок вводили одноразово дозі 100 мг/кг. Токсичність парацетамолу визначали через добу після його одноразового введення в шлунок у дозі 3 г/кг.

Екскрецію метаболітів парацетамолу із сечею визначали у щурів після введення в шлунок 250 мг/кг препарату. Сечу збирали протягом 12 год. Вміст парацетамолу та його метаболітів у сечі визначали, як описано раніше [3]. Рівень відновленого глутатіону в печінці визначали в глутатіонтрансферазній реакції [4].

© Н.І. Волощук, 2004.

Вміст глікогену в печінці визначали антроновим методом [1].

Активність аланінамінотрансферази (КФ 2.6.1.2) і аспартатамінотрансферази (КФ 2.6.1.1), альдолази (КФ 4.1.2.13), гамма-глутамілтрансферази, рівень білірубину, креатиніну, сечовини оцінювали уніфікованими методами [2].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Встановлено, що знеболювальна дія препарату в самок починалась швидше і сягала достовірно більших величин, ніж у самців (табл. 1). Так, на 1-шу годину дослідження знеболювальний ефект парацетамолу в самок на 56,6 %, а на 2-гу годину – на 58,2 % перевищував такий показник у самців. На 6-ту годину у самців поріг больової чутливості (ПБЧ) практично повертався до вихідних значень, тоді як в самок він був вищим від вихідного рівня на 10 %. Виявлена статева різниця може бути наслідком швидшої елімінації препарату в щурів-самців внаслідок андрогенозалежної експресії ферментів, що метаболізують парацетамол.

Для підтвердження ролі метаболічного чинника в детермінації статевих відмінностей фармакодинаміки парацетамолу ми оцінили екскрецію метаболітів парацетамолу із сечею у тварин обох статей (табл. 2). Щури-самці, порівняно із самками, інтенсивніше метаболізують препарат, про що свідчать більша кількість всіх метаболітів у сечі (на 17,6 %) та менша кількість вільних пара-амінофенолу (на 21,5 %) і парацетамолу (на 26,3 %). Екскреція глюкуронових метаболітів на 35,6 % перевищувала таку в самок, тоді як вміст сульфатів практично не відрізнявся у тварин обох статей.



Таблиця 1 – Знеболювальний ефект парацетамолу в самок та щурів-самців після його введення в шлунок у дозі 100 мг/кг ( $M \pm m$ )

Термін дослідження	Поріг больової чутливості (ПБЧ)			
	Самці, n=20		Самки, n=20	
	Абсолютні значення	% до вихідного рівня	Абсолютні значення	% до вихідного рівня
	Електричне подразнення (mV)			
Вихідний рівень	6,23±0,32	0	6,23±0,29	0
Через 1 год	6,83±0,31	10,60±1,77	7,25±0,34	16,60±1,74*
Через 2 год	7,13±0,23	17,00±3,34	7,80±0,30	26,90±2,91*
Через 4 год	6,75±0,29	10,20±3,86	7,30±0,35	17,80±3,00
Через 6 год	6,33±0,30	2,34±1,84	6,78±0,34	8,74±2,16

Примітка. \* – достовірна різниця ( $p < 0,05$ ) між самцями та самками

Таблиця 2 – Екскреція метаболітів парацетамолу із сечею за 12 год після одноразового введення препарату в дозі 250 мг/кг (165 мкмоль/100 г) у щурів-самців та самок ( $M \pm m$ )

Метаболіти парацетамолу	Одиниці вимірювання	Самки, n=22	Самці n=24
Усі метаболіти	мкмоль/100 г маси	104,90±2,27	123,50±3,37*
	% до введеної дози	63,60±1,38	74,80±2,24*
Вільний параамінофенол	мкмоль/100 г маси	5,60±0,21	4,60±0,32*
	% до введеної дози	3,39±0,13	2,79±0,19*
Вільний парацетамол	мкмоль/100 г маси	9,12±0,36	7,23±0,43*
	% до введеної дози	5,53±0,22	4,38±0,26*
Сума вільних параамінофенолу і парацетамолу	мкмоль/100 г маси	14,70±0,49	11,80±0,73*
	% до введеної дози	8,92±0,30	7,17±0,44*
Парацетамол-глюкуронід	мкмоль/100 г маси	56,60±1,33	76,80±2,61*
	% до введеної дози	34,30±0,80	46,50±1,58*
Парацетамол-сульфат	мкмоль/100 г маси	35,60±1,12	34,30±1,19
	% до введеної дози	21,60±0,68	20,80±0,72
Меркаптурати парацетамолу	мкмоль/100 г маси	3,77±0,23	5,21±0,21*
	% до введеної дози	2,28±0,14	3,16±0,17*

Таблиця 3 – Гепато- та нефротоксична дії парацетамолу (100 мг/кг) у і самок щурів-самців ( $M \pm m$ )

Показники	Самки, n=16		Самці, n=20	
	Контроль	Після введення парацетамолу	Контроль	Після введення парацетамолу
АлАТ сироватки крові, од. акт./л	0,50±0,05	3,40±0,14 683 %	0,47±0,04	4,12±0,14 874 %
АсАТ сироватки крові, од. акт./л	0,61±0,06	3,86±0,16 633 %	0,60±0,06	4,86±0,11 811 %
GSH печінки, мкмоль/г	7,37±0,30	2,84±0,13 38,5 %	7,09±0,23	2,13±0,14 30,0 %
GSSG печінки, мкмоль/г	0,21±0,02	1,21±0,12 581 %	0,20±0,02	1,70±0,10 840 %
Глікоген, глюкози на 1 г печінки	160±10	50,60±2,54 31,6 %	169±10	38,10±2,03 22,5 %
Діурез, мл	6,18±0,20	4,44±0,16 71,8 %	5,99±0,26	4,92±0,14 82,1 %
Гамма-глутамілтрансфераза сечі, нмоль/хв/мл	0,89±0,15	5,29±0,27 595 %	1,05±0,09	4,46±0,22 426 %
Сечовина сироватки крові, ммоль/л	4,97±0,37	9,91±0,58 199 %	5,06±0,32	8,21±0,42 162 %
Креатинін сироватки крові, мкмоль/л	58,5±4,57	99,70±4,04 171 %	61,1±3,73	86,80±3,07 142 %
Клубочкова фільтрація, мл/хв	0,53±0,04	0,27±0,02 51,1%	0,54±0,03	0,33±0,02 61,4 %

У сечі самців виявлено більшу (на 38,6 %) кількість меркаптурових похідних парацетамолу, що свідчить про інтенсивніше утворення гепатотоксичного метаболіту N-ацетил-пара-бензохіноніміну. У самців рееструються більше зростання активності сироваткових

трансаміназ, більше виснаження запасів відновленого глутатіону та глікогену в печінці й більше накопичення GS-SG, ніж у самок (табл. 3). При дослідженні нефротоксичної дії парацетамолу відзначено, що більшу схильність до ураження нирок мали самки, в яких препарат викликав помітніше зменшення діурезу, більший вихід у сечу гамма-глу-

тамілтрансферази, зростання вмісту сечовини та креатиніну в сироватці крові та виражене зниження клубочкової фільтрації.

**ВИСНОВОК.** Знеболювальна дія та токсичні ефекти парацетамолу на печінку і нирки певною мірою визначаються статевими особливостями метаболізуючих ферментів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Асатиани В.С. Биохимическая фотометрия. – М.: Изд-во Академии наук СССР, 1957. – 836 с.
2. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
3. Пентюк А.А., Луцюк Н.Б., Гуцол В.И., Яковлева О.А., Лычик Г.З. Ацетанилид как модельный препарат для изучения процессов метаболизма чужеродных веществ // Вопросы мед. химии – 11 с. – Деп. в ВИНТИ 07.06.1990, № 3165-В90.
4. Asaoka K., Takahashi K. An enzymatic assay of reduced glutathione using glutathione S-aryltransferase with O-dinitrobenzene as a substrate // J. Biochem. – 1981. – **90**, № 5. – P. 1237-1242.
5. Bartoli A., Xiaodong S., Gatti G. et al. The

influence of ethnic factors and gender on CYP1A2-mediated drug disposition: a comparative study in Caucasian and Chinese subjects using phenacetin as a marker substrate // Ther. Drug Monit. – 1996. – **18**, № 5. – P. 586-591.

6. Court M.H., Duan S.X., von Moltke L.L. et al. Interindividual variability in acetaminophen glucuronidation by human liver microsomes: identification of relevant acetaminophen UDP-glucuronosyltransferase isoforms // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 2001. – **299**, № 3. – P. 998-1006.

7. Rivera-Penera T., Gugig R., Davis J. et al. Outcome of acetaminophen overdose in pediatric patients and factors contributing to hepatotoxicity // J. Pediatr. – 1997. – **130**, № 2. – P. 300-304.

## МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ДЕТЕРМИНАЦИЯ ПОЛОВЫХ РАЗЛИЧИЙ В АНАЛЬГЕЗИРУЮЩЕМ ДЕЙСТВИИ И ТОКСИЧНОСТИ ПАРАЦЕТАМОЛА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

**Н.И. Волощук**

ВИННИЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. Н.И. ПИРОГОВА

#### Резюме

В экспериментах на крысах исследовано гендерные различия в обезболивающем эффекте, а также гепато- и нефротоксичности парацетамолу. Установлено, что анальгезирующее действие на модели электрического раздражения было выражено сильнее и длилось дольше у крыс-самок. Самцы были более склонными к гепатотоксичности, а самки – к нефротоксичности парацетамолу.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** парацетамол, половые различия, обезболивающее действие, токсичность.

## METABOLIC DETERMINATION OF SEXUAL DIFFERENCES IN ANALGETIC EFFECT AND TOXICITY OF PARACETAMOL IN EXPERIMENT

**N.I. Voloschuk**

VINNYTSIA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY M.I. PYROHOV

#### Summary

The effect of gender-related differences in analgetic effect and hepato- and nephrotoxicity of paracetamol in experiments on rats was investigated. It was established that in female rats the analgetic effect on the model of electrical irritation was marked stronger. Males were more susceptible to hepatotoxicity, and females – to nephrotoxicity of paracetamol.

**KEY WORDS:** paracetamol, sexual differences, analgetic effect, toxicity.

**Адреса для листування:** Н.І. Волощук, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, Україна.

## ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ "КРІОХОР" НА РІВЕНЬ МОЛЕКУЛ СЕРЕДНЬОЇ МАСИ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ОПІКОВОЇ ХВОРОБИ

Л.Г. Нетюхайло, М.Ю. Бабаніна, А.В. Міщенко  
УКРАЇНЬСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ, ПОЛТАВА

*Вивчали вплив препарату "кріохор" на рівень молекул середньої маси в умовах експериментальної опікової хвороби. Встановлено, що його застосування є патогенетично обґрунтованим для лікування опікової хвороби.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: експериментальна опікова хвороба, кріохор.

**ВСТУП.** На сьогодні доведено важливу роль фетальних препаратів при лікуванні ряду патологічних станів [6, 8]. Однак механізми позитивної дії одного такого препарату як "кріохор" – при опіках до цього часу не вивчали.

Метою дослідження було вивчення концентрації молекул середньої маси (МСМ) в умовах експериментальної опікової хвороби при застосуванні препарату "кріохор".

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження виконано на 259 щурах-самцях лінії Вістар масою 200-220 г. Опікову хворобу моделювали за методом [1] шляхом занурення епільованої поверхні шкіри задньої кінцівки експериментальних тварин у гарячу воду (температура 70-75 °С) під ефірним наркозом, протягом 7 с. Розмір ділянки пошкодження визначали залежно від площі ураженого шкірного покриву, яка в середньому становила 12-15 % поверхні тіла щура. Площу ураження розраховували за допомогою спеціальної таблиці [2]. Гістологічне дослідження пошкодженої шкіри свідчило, що за вищезазначених умов утворювався опік IIIA-B ступеня, який, згідно із сучасними уявленнями, є стандартною моделлю розвитку опікової хвороби в експерименті [5].

Щурів декапітували через 1, 6, 12 год та 1, 2, 3, 5, 7, 10, 14, 21, 28 діб, що, за сучасними уявленнями [5], відповідає стадіям шоку, ранньої і пізньої токсемії та септикотоксемії.

Препарат "Кріохор" вводили внутрішньом'язово у дозі 1,0 мл [6]. Контролем були щури

© Л.Г. Нетюхайло, М.Ю. Бабаніна, А.В. Міщенко, 2004.

з природним перебігом опікової хвороби, яким замість кріохору вводили 1,0 мл 0,9 % ізотонічного розчину NaCl. Вивчали також вплив препарату на рівень МСМ у здорових тварин (без опікової хвороби); контролем були інтактні щури.

Рівень ендогенної інтоксикації оцінювали, вивчаючи неспецифічну токсичність сироватки крові за вмістом МСМ – інтегрального показника отруєння організму [4].

Експерименти на щурах виконували згідно з правилами Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях [9].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Показано, що введення препарату кріоекстракту хоріона суттєво не впливає на рівень МСМ у крові здорових тварин (табл.1).

Як видно з рисунка 1, через 6 год спостерігається максимальне зростання досліджуваного показника – в 6,71 раза, через 12 год токсичність сироватки крові залишається високою – в 5,71 раза більшою, ніж у групі порівняння. Ці періоди можна вважати проявом найбільшої інтоксикації. Через добу вміст середніх молекул підвищується в 5,14 раза, на 2-гу добу – в 4,57 раза, на 3-тю – в 4,28 раза (що відповідає стадії опікового шоку). На 5-ту добу показник усе ще залишається суттєво збільшеним – у 3 рази. На 7-му добу, яка відповідає стадії ранньої токсемії, він підвищується в 2,57 раза, на 10-ту – в 1,32 раза, на 14-ту (стадія пізньої токсемії) – в 1,21 раза. На

Таблиця 1 – Вплив препарату "Кріохор" на вміст молекул середньої маси у здорових тварин

Термін дослідження, доба	МСМ, ум. од.
0,04	0,061±0,001
0,25	0,070±0,002
0,5	0,065±0,001
1	0,069±0,002
2	0,068±0,001
3	0,055±0,006
5	0,069±0,001
7	0,068±0,001
10	0,070±0,003
14	0,066±0,004
21	0,006±0,003
28	0,065±0,003
контроль	0,069±0,001

21-шу та 28-му доби (стадія септикотоксемії) залишався на такому ж рівні, що і на 14-ту добу, в стадію пізньої токсемії.

Отже, відзначається підвищення рівня "середніх молекул" у сироватці крові, що свідчить про наявність синдрому "ендогенної" метаболічної інтоксикації. Цей синдром являє собою низку неспецифічних проявів інтоксикації організму, які мають місце при більшості патологічних станів, що перебігають з явищами запального характеру [3, 7].

Введення препарату "кріохор" дозволило знизити рівень МСМ в усі досліджувані терміни, а також дещо зменшити ступінь інтоксикації організму.

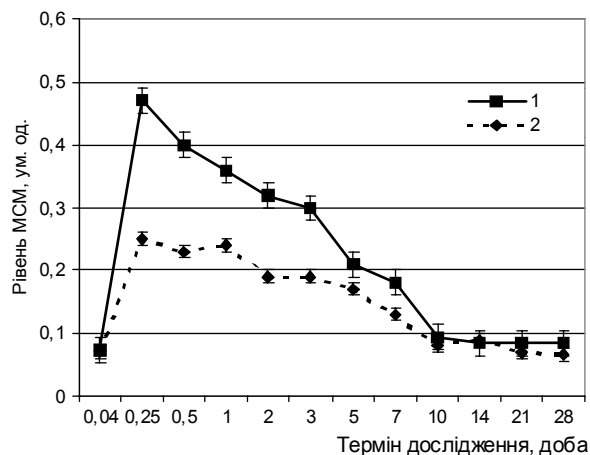


Рис. 1. Концентрація молекул середньої маси в умовах експериментальної опікової хвороби (1) та при застосуванні препарату "кріохор" (2).

**ВИСНОВКИ.** 1. При експериментальній опіковій хворобі відзначається підвищення рівня середніх молекул у сироватці крові, що свідчить про наявність синдрому ендogenous метаболічної інтоксикації.

2. Застосування екстракту хоріона для лікування цієї патології сприяє нормалізації концентрації МСМ та ліквідації синдрому ендogenous метаболічної інтоксикації.

3. Вищевикладене дозволяє вважати патогенетично обгрунтованим використання екстракту хоріона для лікування опікової хвороби.

4. У подальшому буде доцільним вивчення впливу екстракту хоріона на вміст молекул середньої маси у постраждалих від опіків.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Довганский А.П. Материалы к патогенезу ожоговой болезни: Автореф. дисс. ... д-ра. мед. наук. – Кишинев, 1971. – 32 с.
2. Кочетыгов Н.И. Ожоговая болезнь. – Л. Медицина, 1973. – 244 с.
3. Мельцер И.М., Потапов А.Ф., Эверстова Л.В., Кершенгольц Б.М. Показатели эндотоксикоза и неспецифической адаптивной реакции при распространенном перитоните в условиях крайнего Севера // Анестезиология и реаниматология. – 2004. – № 2. – С. 49-52.
4. Методы исследований в профпатологии / Под ред. О.Г. Архиповой. – М.: Медицина, 1988. – 207 с.
5. Пасечка Н.В. Морфология кишки при опіковій хворобі та після корекції ентеросорбентами: Авто-

реф. дис. ... д-ра. мед. наук. – К., 1996. – 47 с.

6. Пітько В.А. Нові підходи в лікуванні жінок з підгострими запальними захворюваннями придатків матки: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Харків, 2001. – 36 с.

7. Стариков А.В., Гаврилюк Е.І., Баронская Л.В. та ін. Застосування ентеросорбентів у комплексному лікуванні гематологічних хворих // Журнал практичного лікаря. – 2004. – № 1. – С. 24-27.

8. Субота Н.П., Грищенко В.И., Питько В.А. Влияние фетальных препаратов на состояние иммунной системы у крыс при экспериментальном воспалительном процессе // Проблемы криобиологии. – 2000. – № 3. – С. 50-58.

9. Canalis E., Delany A.M. Mechanisms of glucocorticoid action in bone // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2002. – 966. – P. 73-81.

## ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА "КРИОХОР" НА УРОВЕНЬ МОЛЕКУЛ СРЕДНЕЙ МАССЫ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОЖГОВОЙ БОЛЕЗНИ

Л.Г. Нетюхайло, М.Ю. Бабанина, А.В. Мищенко  
УКРАИНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ, ПОЛТАВА

### Резюме

Изучали влияние препарата "криохор" на уровень молекул средней массы в условиях экспериментальной ожоговой болезни. Установлено, что его применение является патогенетически обоснованным для лечения ожоговой болезни.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: экспериментальная ожоговая болезнь, криохор.

## INFLUENCE OF PREPARATION "CRYOCHOR" ON THE LEVEL OF MEDIUM-MASS MOLECULES IN CONDITIONS OF EXPERIMENTAL BURN DISEASE

L.G. Netiuchailo, M.Y. Babanina, A.V. Mishchenko  
UKRAINIAN MEDICAL STOMATOLOGICAL ACADEMY, POLTAVA

### Summary

There was studied the influence of preparation "Cryochor" on the level of medium-mass molecules in condition of experimental burn disease. It was determined that the application of the preparation is pathogenetically substantiated for the treatment of burn disease.

KEY WORDS: experimental burn disease, cryochor.

Адреса для листування: Л.Г. Нетюхайло, Полтавська медична стоматологічна академія, вул. Шевченка, 23, Полтава, 36024, 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, № 3, 2004 —



УДК 577.1(07)+616.1.4-074:543

**ПРО ВИКЛАДАННЯ БІОХІМІЇ НА МЕДИЧНИХ ФАКУЛЬТЕТАХ В УКРАЇНІ  
З ПОЗИЦІЙ ЗАРУБІЖНОГО МЕТОДУ PROBLEM-BASED-LEARNING (PBL)****М.В. Князева***ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В.Н. КАРАЗІНА  
ГРОМАДСЬКА ОРГАНІЗАЦІЯ "НОВЕ МИСЛЕННЯ У МЕДИЦИНІ"*

*Викладання біохімії в медичних ВНЗ України є однією з актуальних проблем підготовки лікарів у теперішній час. Це було підтверджено на 29 Конгресі FEBS (2004, Варшава), VIII Українському біохімічному з'їзді (2002, Чернівці). Було показано відсутність зв'язку між отриманням теоретичних знань та використанням їх у практичній діяльності лікаря через відсутність курсу клінічної біохімії. Тому традиційна форма викладання біохімії потребує покращання. У цьому питанні істотну допомогу Україні може надати досвід використання популярного на медичних факультетах в інших країнах метода викладання, що базується на медичній проблемі (problem-based-learning-PBL).*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** викладання біохімії, медичні факультети, клінічна біохімія, біохімічні аналізи, невміння інтерпретувати, зарубіжний досвід, навчання, що базується на проблемі.

Як відомо, в конкурсі Федерації Європейських Біохімічних Товариств (FEBS) до 29 Конгресу (червень 2004 р., Варшава) на опис проблем, що потребують вирішення у найближчі роки, одне з перших місць експертна комісія FEBS присудила проблемі викладання біохімії в медичних ВНЗ України. Оскільки біохімічні методи дослідження складають головну частину діагностичної інформації, невміння практичними лікарями інтерпретувати результати біохімічних аналізів може стати джерелом значних діагностичних помилок. Тому вкрай необхідно розробити програму, яка б містила самостійний курс клінічної біохімії щодо розвитку в лікарів "клінічного мислення" [8]. Актуальність цієї проблеми два роки тому було підтверджено на VIII біохімічному з'їзді України у жовтні 2002 р. в м. Чернівці роботами таких фахівців як Ю.І. Губський, Ю.В. Хмелевський, Я.І. Гонський та ін. [1, 2, 4]. У розв'язанні даної проблеми в Україні в попередні роки слід відмітити пріоритет Харківської школи клінічної біохімії, яку до 1996 р. (рік смерті) очолювала професор Панченко Ніна Іванівна (кафедра клінічної біохімії ХМАПО) [3].

Оскільки традиційна форма викладання біохімії майбутнім лікарям характеризується розривом між теоретичним знанням і можли-

вістю використовувати його у практичній діяльності лікаря, виникає необхідність у перебудові навчального процесу. В цьому відношенні великим джерелом подолання недоліків у викладанні біохімії майбутнім лікарям та можливості встановлення більш тісного зв'язку теорії з практикою є обмін досвідом між викладачами 5, 6, 7, 9, медичних ВНЗ України та інших країн. Звертаючись до досвіду іноземних фахівців [5-8, 10-13], можна помітити, що в ВНЗ європейських країн, Америки, Канади, Малайзії та інш. понад 50 років досить популярною є ідея навчання, що базується на проблемі (Problem-based-learning – PBL). У минулому сторіччі авторитетні в медицині фахівці помітили, що зростання інформації на медичні теми призводить до перевантаження студентів-медиків фактами, які потрібно запам'ятати [11]. Ця проблема ускладнюється у зв'язку з експоненціальним зростанням знань у медицині та біологічній науці взагалі. Варто погодитися з тим, що жодна людина не в змозі запам'ятати всього, що студенти, які посилено "надавлювали" на пам'ять, швидко забували вивчені до екзамену істини після його складання. Але ж одна людина може запам'ятати номер телефону, молекулярну масу трису, вірш, а інша – ні. До того ж, таке запам'ятовування мало впливає

© М.В. Князева – д.біол.н., проф., 2004.

чи зовсім не впливає на процес обробки ("перетравлювання") інформації. Таке навчання називають "поверхневим". Було усвідомлено, що важливішим є не стільки запам'ятати великий об'єм знань, скільки використовувати отриманий об'єм інформації. Запам'ятати матеріал з біохімії доцільно в контексті якої-небудь медичної проблеми. Опанування інформацією означає: отримання нового знання, розуміння його, перевірка того, чи стикається воно з уже існуючим знанням (каркасом), та поєднання його з цим каркасом. Саме таке знання найбільше підходить для правильного запам'ятовування на тривалий час та може використовуватися для вирішення медичних проблем, оскільки воно є як слід зрозумілим. На думку Е. Wood [13], можна стимулювати студентів на поглиблене навчання, якщо застосовувати для контролю знань оцінювальні роботи, що не потребують простого переказу, а перевіряють розуміння отриманого матеріалу та можливість його використання для розв'язання проблем.

Згідно з описом [12, 13], в ході PBL маленькій групі студентів (6-8 осіб) пропонується проблема. На медичному факультеті проблема повинна бути медичною, для чого групі, можливо, знадобиться інформація, щоб встановити діагноз. Група перебуває під наглядом куратора (координатора), функцією якого є давати студентам поради та направляти їх на правильний шлях, але не наповнювати предмет знанням, як це звичайно робиться на лекціях. Група може зустрічатися декілька разів на тиждень, кожна зустріч для обговорювання проблеми може продовжуватися декілька годин. Група намагається зрозуміти проблему, а потім переформулювати її, щоб розв'язати. На прикінці першої зустрічі члени групи вирішують, яка інформація потрібна для розв'язання проблеми, і розподіляють між собою завдання. Кожен проводить пошук інформації індивідуально за своїм завданням. Кожен повинен "перетравити" свою інформацію таким чином, щоб іншим членам групи вона була зрозумілою при поясненні. На наступній зустрічі члени групи проводять обмін інформацією та вирішують, чи зможуть вони з тією інформацією досягнути розв'язання проблеми, чи знадобиться додаткова інформація. Потім вони намагаються підвести підсумок. Рішення може бути знайдено або група зрозуміє, що є більше одного рішення, або для розв'язання проблеми отриманої нею інформації недостатньо. За допомогою куратора члени оцінюють те, що зробили за тиждень, наскільки ефективними вони були, що допомогло, а що було даремною

тратою часу, та що треба зробити найближчим часом. На наступному тижні їм буде запропоновано нову проблему.

На думку Е. Wood [13], існує багато прийомів (правил) накопичення знань у процесі навчання, та вони розвиваються в контексті й увесь процес, починаючи функціонуванням групи і закінчуючи вирішенням проблеми, не відбуватиметься, доки ці правила не будуть вивчені. Традиційно університетські курси були пов'язані з передаванням інформації, хоча нещодавно стали викладати інше – передавальні навички, такі, як: знайти інформацію, прочитати наукову літературу, робота в команді, презентація навичок тощо. Питання в тому, як прищепити студентам ці навички в біомедичній галузі, як подолати потік інформації. Одним із шляхів вирішення даної проблеми було організувати на медичних факультетах у Північній Америці навчання, яке базується на проблемі (50 років тому), що "повертає традиційний процес навчання з ніг на голову" [13]. Прихильники PBL цей метод навчання вважають не тільки не гіршим від традиційного засобу викладання, але й найбільш життєвим. На думку решти фахівців [7, 10, 13], PBL обіймає принципи дуже доброго навчання та викладання, стимулює студентів на формування світогляду та підготовку до навчання впродовж усього життя. Використання знання в межах клінічних завдань посилює процес запам'ятовування та "перетравлювання" інформації. На думку інших, система не завжди працює задовільно, особливо, якщо факультет не згоден з об'ємом курсу. PBL може здаватися неефективним методом, тому що замість одного лектора, який читає лекцію 400 особам в одній аудиторії, потрібно 50 кураторів для роботи з групами по 8 осіб. Згідно з узагальненнями [7, 8, 9, 10], ідея PBL викликає у решти фахівців протест значної сили, нестриману негативну реакцію та бажання "втопити" те, що повинно ретельно обговорюватися як спірна проблема освіти.

За даними D.E. Allen [5] стосовно використання цього методу, PBL було запропоновано на семінарі в університеті в Делавері ще у 1992 році, щоб підготувати факультет до викладання за новою програмою медичних шкіл. Факультетська група одразу ж визначила потенціал методу та адаптувала його до запропонованих наукових курсів. Головною перешкодою на шляху адаптації PBL в науковій освіті студентів останнього курсу була відсутність зручних курсових матеріалів. К. Burdett [6] описує використання PBL-стратегії навчання на медичному факультеті у Манчестері. Команді ви-

кладачів факультету медичних та біологічних наук припали до душі запропонована форма PBL-процесу запропонована та база знань і навичок, якої вистачить на всі 5 років навчання до закінчення університету. "Проблеми" для розглядання на сесіях були підібрані та протестовані міждисциплінарною командою клініцистів та вчених-біологів, які гарантували відповідний рівень змісту. Досвід проходження студентами клінічної та загальної практики також використовується для розвитку PBL-обговорень під час зустрічей групи (сесій). Весь курс є інтегративним. Його головною перевагою над традиційним курсом є те, що студенти, найбільш вірогідно, бачать ширшу картину. Медичні проблеми укладено у 4 блоках, розподілено за рангом. У роки навчання у клініці студенти торкатимуться теми кожного блоку так, що базові медичні науки можна буде перевірити. Оскільки PBL-курс у Манчестерському університеті почався з 1994 р., до теперішнього часу його закінчили 5 поколінь студентів. Порівняно зі студентами, які отримали освіту за традиційним курсом (з крейдою в руці біля дошки), студенти, які пройшли PBL-підготовку, мали найкращу базу навичок.

Деякі медичні школи комбінують PBL-зустрічі з лекціями (це важливо в переддипломній освіті, коли рівень знань студентів досить низький) та іншими заняттями (Burdett,

1996), заповнюють місце лабораторними роботами.

За даними решти авторів [6, 8, 9, 10], існує проблема оцінки знань та скасування екзаменів для студентів, підготовлених за PBL. Це важливо, тому що студенти потребують рівня оцінки того, як вони прогресують з року в рік. Професійні органи (наприклад, Медична рада та Рада дантистів) потребують стандартів, за допомогою яких можна оцінити та гарантувати професійну компетентність. Можливо, наші традиційні форми перевірки є певною мірою задовільними, але ж вони більше підходять для розтягнутої, гармонізуючої форми питань, а не питань типу: "У пацієнта є ... симптоми і ... показники крові. Що робити в цій ситуації?"

Таким чином, існуюча в Україні проблема викладання біохімії в медичних ВНЗ, що характеризується розривом між теоретичним знанням та його використанням у лікарській практиці, потребує перебудови традиційної системи навчального процесу. Аналіз вітчизняного та зарубіжного досвіду демонструє ефективність методу викладання біохімії майбутнім лікарям, побудованого на медичній проблемі, що можна поєднати з елементами традиційної системи викладання. Такий напрямок у навчанні буде сприяти контекстуальному запам'ятовуванню, поглибленому навчанню та подоланню розриву між теоретичним знанням і його використанням у лікарській діяльності.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Гонський Я.І., Шершун Г.Г., Корда М.М. Впровадження сучасних технологій навчання студентів із біологічної хімії // Укр. Біохім. журн. – 2002. – **74**, № 4а (додаток 1). – С. 202.

2. Губський Ю.І., Хмелевський Ю.В. Стан та перспективи викладання біологічної хімії у вищих медичних навчальних закладах України // Укр. біохім журн. – 2002. – **74**, № 4а (додаток 1). – С. 197.

3. Князева М.В. Из истории кафедры клинической биохимии в Харьковском институте усовершенствования врачей (к 75-летию ХИУВ) // Лаб. Диагностика. – Киев, 1998. – № 3. – С. 75-79.

4. Князева М.В., Бабаева О.И. О специфике и способах повышения эффективности преподавания биохимии в медицинских вузах // Сб. Наука і освіта 2004. – Днепропетровск: Наука і освіта, 2004. – Т. 47. Медицина. – С. 54-57.

5. Allen D.E. Pulling it all together: the problem-based-learning (PBL) approach in undergraduate science education / The FEBS Journal. – 2004. – **271**, № 1 – P. 242.

6. Burdett K. Problem-based-learning in a medical course // The FEBS Journal. – 2004. – **271**, №.1 – P. 242.

7. Herreid C.F. The death of problem-based-learning // College Sci. Teachers. – 2003. – **32**. – P. 364-366.

8. Knyazeva M. One of the winner of a free registration to the 2004 FEBS Congress in Warsaw. Challenges for European Science // FEBS Newsletter. – 2004. – № 3. – P. 6.

9. Margetson D. Why is problem-based-learning a challenge? In: The Challenge of Problem-based-Learning / Boud D., Feletty G.E. – London: p. 36-44.

10. Newman A. The new Toronto medical curriculum // Biochem. Educ. – 1993. – **21**. – P. 170-179.

11. Osler W. Examination, examiners and examinees // Lancet. – 1913 II. – P. 1047-1050.

12. Smith C.A., Powell S.C., Wood E.J. Problem-based-learning and problem-solving skills // Biochem. Educ. – 1995. – **23**. – P. 149-1452.

13. Wood E.J. Problem-based-learning // J. Acta Biochimica Polonica. – 2004. – **51**, № 2. – P. 21-26.

## О ПРЕПОДАВАНИИ БИОХИМИИ НА МЕДИЦИНСКИХ ФАКУЛЬТЕТАХ В УКРАИНЕ С ПОЗИЦИЙ ЗАРУБЕЖНОГО МЕТОДА PROBLEM-BASED-LEARNING (PBL)

**М.В. Князева**

ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. В.Н. КАРАЗИНА  
ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ "НОВОЕ МЫШЛЕНИЕ В МЕДИЦИНЕ"

### Резюме

Преподавание биохимии в медицинских вузах Украины является одной из актуальных проблем подготовки врачей в настоящее время. Это было подтверждено на 29 Конгрессе FEBS (2004, Варшава), VIII Украинском биохимическом съезде (2002, Черновцы). Было показано отсутствие связи между получением теоретических знаний и использованием их в практической деятельности врача из-за отсутствия курса клинической биохимии. Поэтому традиционная форма преподавания биохимии требует улучшения. В этом вопросе существенную помощь Украине может оказать опыт использования популярного на медицинских факультетах в других странах метода преподавания, построенного на медицинской проблеме (problem-based-learning-PBL).

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** преподавание биохимии, медицинские факультеты, клиническая биохимия, биохимические анализы, неумение интерпретировать, зарубежный опыт, обучение, основанное на проблеме.

## ABOUT BIOCHEMISTRY TEACHING AT MEDICAL DEPARTMENTS IN UKRAINE ACCORDING TO THE PROBLEM-BASED-LEARNING ( PBL ) METHOD

**M.V. Knyazeva**

KHARKIV NATIONAL UNIVERSITY BY V.N. KARAZIN  
CIVIL ORGANIZATION "NEW THINKING IN MEDICINE"

### Summary

The Biochemistry learning at Medical Departments in Ukraine is one of the actual problems of doctors' preparation nowadays. It was confirmed by the 29th FEBS Congress (2004, Warsaw) and the VIII Ukrainian Biochemistry Congress (2002, Chernivtsi). It was shown the absence of connection between theoretical knowledge and its application in doctors' practice because of clinical biochemistry course absence. That's why the traditional form of Biochemistry teaching needs considerable improvement. The experience of using the popular problem-based-learning-(PBL) foreign method can help significantly in this matter.

**KEY WORDS:** biochemistry teaching, medical departments, clinical biochemistry, biochemical analyses, inability to interpret, foreign experience, problem-based-learning.

Адреса для листування: М.В. Князева, вул. Старицького, 16, кв. 161, Харків, 61018, Україна.

## ПЕРСПЕКТИВИ СТВОРЕННЯ НОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ ОКСИЕТИЛІДЕНДИФОСФОНОВОЇ КИСЛОТИ

**В.Й. Кресюн, І.Й. Сейфуліна, Г.Г. Відавська, К.Ф. Шемонаєва**  
ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

*Аналіз даних літератури дозволяє зробити висновок, що фосфороорганічні комплекси є малотоксичними сполуками, володіють високою і багатогранною біологічною активністю. Зі сказаного випливає, що комплекси, у ряді похідних фосфонових кислот, можуть значною мірою впливати на процеси життєдіяльності організму тварини і людини, а також на перебіг багатьох патологічних процесів. У зв'язку з цим є підстава вважати, що комплекси, перш за все 1-оксиетилідендифосфонова кислота, є, безсумнівно, перспективними стосовно створення високоефективних лікарських препаратів для боротьби з вірусними захворюваннями, лікування отруєнь солями важких металів і радіоактивними елементами, патологічної кальцифікації м'яких тканин, остеопорозу, захворювань зубів і, можливо, онкологічних захворювань.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** оксиетилідендифосфонова кислота, комплексон, комплексна сполука.

Пошук лікарських засобів, які проявляють високу комплексоутворювальну дію і стійкі до руйнування в біологічних системах, призвів до створення комплексонів, що містять фосфонові групи [4, 7, 11, 29]. Важливою з дифосфонатів є 1-оксиетилідендифосфонова кислота (ОЕДФ) – комплексон, який у даний час найбільш вивчено як в Україні, так і за рубежом. Молекула ОЕДФ, на відміну від ряду інших лігандів, дуже компактна. При одному атомі вуглецю містяться дві сильноокислі фосфонові групи і високолушний гідроксил. Фосфонові групи практично накладаються одна на одну, ланцюжок O-P-C-P-O має характерну W-подібну, близьку до площинної структуру [4, 11, 29].

Вивчення комплексоутворювальних властивостей ОЕДФ показало, що поєднання в молекулі фосфонових груп, здатних до комплексоутворення в сильноокислому середовищі, й гідроксильної групи, що володіє порівняно високою лужністю, робить можливим утворення міцних протонуваних комплексів із лужноземельними, перехідними і рідкоземельними елементами. Це дозволяє розширити спектр рН комплексів від кислого до лужного [10, 13]. Особливо високою є міцність цілком депротонуваних комплексів ОЕДФ з іонами Fe, Al, Th, Ge, для яких, поряд з великою координаційною ємністю, на перший план виступає

здатність утворювати координаційні зв'язки з киснем гідроксилу. Молекула ОЕДФ потенційно п'ятидентатна, однак через стеричні утруднення в більшості випадків координаційний зв'язок з іоном металу утворюють лише три донорних атоми кислоти. Ті донорні атоми, що залишилися, можуть координаційно зв'язуватися з другим іоном металу тієї ж чи іншої природи з утворенням стійких полігомо- і гетероядерних комплексів як із лужноземельними, так і з перехідними металами [10]. Характер молекулярної конформації дифосфонових кислот відіграє важливу роль у їх біологічній активності [10, 14]. У разі взаємодії з катіонами з великим координаційним числом (Al, Zr, Fe, Th, Ge тощо) ОЕДФ не здатна "наситити" координаційну ємність іона-комплексоутворювача. Координаційні місця катіонів, що залишилися, можуть насичуватися за рахунок іншої молекули кислоти, утворювати комплекси складу метал:ліганд=1:2, а при наявності в системі іншого ліганду – змішані комплекси. Ця здатність до змішаного комплексоутворення властива й іншим комплексонам, що великою мірою визначає їх біологічну активність [4, 14, 29]. У даний час фармакологічні засоби на основі ОЕДФ можуть бути класифіковані таким способом:

*Антидоти при отруєнні токсичними і радіоактивними елементами (Be, Pu, Po, Pb, Hg, Mn тощо), фторидом натрію, етиленгліколем, вітаміном D, ціанідами й ін.*

© В.Й. Кресюн – д.мед.н., проф., чл.-кор. АМН України, І.Й. Сейфуліна – д.хім.н., проф., Г.Г. Відавська, К.Ф. Шемонаєва, 2004.



Ролі хелатуючих агентів при лікуванні отруєння металами присвячена велика кількість публікацій, зокрема оглядів і монографій [4, 10, 14, 29]. Виявлено, що дифосфонові кислоти різко знижують кількість  $^{75}\text{Se}$  в м'яких тканинах і кістяку (в останньому – до 30 %, порівняно з контролем, без введення комплексону). Показано також, що утворення різнолігандних комплексів на основі оксіетилідендифосфонатів можна використовувати і для виведення з організму токсичних органічних речовин, у тому числі пестицидів, що містять функціональні угруповання з донорними атомами, здатними взаємодіяти з металом до чи після метаболічної активації [10]. Висловлено припущення про можливість застосування хелатів на основі ОЕДФ для перенесення органічних хіміотерапевтичних препаратів до уражених органів чи для видалення їх надлишкових кількостей [18, 29].

*Регулятори мінерального обміну: інгібітори кристалізації малорозчинних солей  $\text{Ca}^{2+}$  – попередження патологічної кальцифікації м'яких тканин, пригнічення періодонтальної остеодистрофії та резорбції кістки, запобігання остеопорозу, профілактика і лікування сечокам'яної хвороби, прогресуючого осифікувального міозиту, хвороби Педжета, карієсу, зняття зубних каменів, регуляція кальцій-фосфатного обміну при ряді професійних захворювань, в умовах гіпокінезії і невагомості, при старінні.*

Встановлено антикальцифікуючу активність дифосфонатів з гемінальними фосфоновими групами, що пояснюється, зокрема, особливістю їх комплексоутворення із  $\text{Ca}^{2+}$  і здатністю інгібувати кристалоутворення фосфатів та оксалатів кальцію. Навіть мінімальні кількості дифосфонатів інгібують осадження цих солей з розчину і ріст їх кристалів [18, 20]. У зв'язку з тим, що немаловажну роль у генезі ниркових каменів відіграє порушення кальцієвого обміну, здатність інгібувати кристалізацію фосфатів і оксалатів кальцію Са-хелатуючими агентами *in vitro* зумовила особливий інтерес до дифосфонатів як терапевтичного засобу для лікування уролітіазу [6, 31]. Безсумнівний інтерес викликає дослідження можливості використання фосфороорганічних комплексонів зазначеного типу при терапії хвороб опорно-рухового апарату, серцево-судинної системи, у стоматології і при регуляції порушень кальцієвого обміну в умовах космічного польоту [1, 2, 19, 24, 28, 29].

Динатрієва сіль ОЕДФ у даний час поширена в декількох країнах під комерційними назвами "Дидронел" і "Етидрон". Проїшов клінічні іспити і дозволений до застосування ксидифон –  $\text{KNa}$ -ОЕДФ [3, 9, 12, 13].

Результати дослідження біологічної активності ксидифону показали, що він не має токсичної дії при прийманні протягом 181 днів у дозі, яка у 5-10 разів перевищує лікувальну. В експерименті на мишах установлено, що препарат малотоксичний. ЛД<sub>50</sub> складає 1,5 г/кг маси тіла, а терапевтична доза – 0,045-0,050 г/кг. Тому виникнення і розвиток інтоксикації при передозуванні препарату малоїмовірно [6, 8, 7, 12, 14]. При патологічній кальцифікації м'яких тканин, яка викликана різноманітними агентами, ксидифон у дозі 22,5-45,0 мг/кг володіє вираженою антикальцифікуючою активністю і не має негативного впливу на функції внутрішніх органів [17, 18, 20]. Так, дослідження лікувального ефекту ксидифону при сечокам'яній хворобі показало, що препарат попереджує втрату із сечею  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , амінокислот, а також знижує вміст оксалату в сечі, в умовах токсичного впливу вітаміну D чи паратгормону. Крім позитивного впливу на функції нирок, ксидифон значно зменшує відкладення  $\text{Ca}^{2+}$  у нирковій тканині й, відповідно, запобігає збільшенню маси нирок. У процесі лікування ксидифоном отримано дані про наявність у препараті антисеротонінових властивостей і можливість купірування з його допомогою спазму гладеньких м'язів сечовода при відходженні конкрементів із сечових шляхів [6, 28, 31]. У мінімальних дозах дифосфонати збільшують включення  $\text{Ca}^{2+}$  у кісткову тканину, попереджують патологічний вихід його з кісток [1, 2, 17, 19, 24]. Вони надзвичайно активно підвищують стійкість кісток до руйнування, викликаного різними агентами (паратгормоном та іншими гіпер- і гіпокальціємічними засобами) [1, 6, 19, 25]. ОЕДФ запобігає різним видам остеопорозу [2, 24], включаючи ниркову остеодистрофію, періодонтальну деструкцію, а також деструкцію пересаженої кістки [23, 24, 29]. Виявлена здатність дифосфонових кислот регулювати метаболізм кальцію як у м'яких тканинах, так і в кістках є підставою для дослідження можливості використання цих сполук з метою профілактики і корекції патологічних порушень функцій організму при деяких професійних захворюваннях, у т. ч. при вібраційній хворобі [7, 12, 14]. На основі отриманих результатів можна зробити висновки про перспективність застосування ксидифону й інших сполук цієї групи як засобів, що запобігають порушенню метаболізму кальцію і демінералізації кісткової тканини при вібрації, гіпокінезії і невагомості [3, 7, 12, 24, 29].

Великий інтерес викликає пошук лікарських препаратів, ефективних при патології нирок, спричиненій отруєнням етиленгліколом, коли

нирки цілком перестають функціонувати через надмірне відкладення в них оксалатів, що утворюються з етиленгліколю. У результаті отруєння виникають гостра ниркова недостатність, уремія і загибель організму. На основі здатності ксидифону зменшувати відкладення оксалатів у нирках і підсилювати виведення їх з організму можна рекомендувати цей препарат як терапевтичний засіб при раніше практично невиліковному отруєнні етиленгліколем [6, 12, 31].

При вивченні взаємодії дифосфонатів із  $\text{Ca}^{2+}$ -біокомплексами клітин показано, що дифосфонати накопичуються в специфічних відділах клітин, особливо в мембрані [12]. Включаючись у структуру мембран клітин, дифосфонати забезпечують їх стійкість до токсичного, імунного й інших шкідливих впливів. З одного боку, ксидифон заміняє ушкоджені структурні компоненти біомембран і сприяє нормалізації їх функціонування, з іншого – пригнічує активність ферментів, що руйнують мембранні структури. Зазначений ефект залежить не тільки від комплексоутворювальних властивостей фосфонових кислот, але й від спорідненості цих сполук з молекулярними структурними компонентами клітинних мембран. Проведені дослідження дозволяють припустити можливість використання ксидифону в біології і медицині як стабілізатора клітинних мембран при різних захворюваннях, що супроводжуються мембранодеструктивним ефектом. Препарат активно включається в мембранні фосфоліпіди й, очевидно, може так само, як і природні монофосфати, впливати на стабільність клітинних мембран, запобігаючи руйнуванню мембранних фосфоліпідів [6, 7, 12, 13]. Про мембраностабілізуючу роль дифосфонатів свідчить їх здатність інгібувати фосфоліпази – ферменти, які гідролізують мембранні фосфоліпіди і ліпопротеїди, що впливають на активність деяких мембранозв'язаних ферментів [5, 8, 12]. З метою пригнічення активності ферментів, які руйнують клітинні й субклітинні мембрани тканин і органів при опіковій хворобі, у комплекс лікувальних заходів включено ксидифон [13]. У зв'язку із значним поширенням захворювань, що супроводжуються порушенням ліпідного обміну, актуальною є проблема його лікарської регуляції. Під впливом ксидифону в комплексі з вітаміном Е нормалізується фосфо-ліпідний склад клітинних мембран. Це підтверджує припущення про поліпшення метаболізму клітини мембраностабілізуючими засобами при патологічних процесах, зумовлених дезорганізацією структурних компонентів цитомембран. Застосування фосфонових сполук у комплексному лікуванні аліментарної гіпер-

холестеринемії є патогенетично виправданим [3, 7, 12, 13]. Установлено також, що ксидифон захищає зовнішню клітинну мембрану еритроцитів і Т-лімфоцитів від імунного ушкодження, зв'язуючи  $\text{Ca}^{2+}$ . Цей факт може мати важливе значення для розуміння механізмів розвитку і лікування ряду захворювань, при яких основною патогенетичною ланкою є порушення цілісності зовнішньої клітинної мембрани [8, 9, 12, 23].

*Засоби, які застосовують при онкологічних захворюваннях: гальмування розвитку пухлин, інгібування поширення метастазів у кістках, лікування злоякісної гіперкальціємії.*

Оскільки процеси канцерогенезу тісно пов'язані з обміном кальцію, експерименти з вивчення можливості застосування дифосфонатів при злоякісних захворюваннях варто вважати виправданими. Внутрішньовенне введення ОЕДФ показало, що даний препарат добре переноситься хворими і є перспективним для лікування гіперкальціємії та інгібування резорбції кісток при злоякісних захворюваннях [17, 20, 23]. При цих захворюваннях здатність пухлинних клітин пускати в хід фактори, які стимулюють резорбцію кісток, часто зумовлює розвиток гіперкальціємії, що є головною причиною смерті в результаті метастазів у кістки. Варто особливо підкреслити, що ефективність препаратів, застосовуваних у даний час для блокування резорбції кісток, обмежена. Фосфат може викликати кальцифікацію м'яких тканин, мітраміцин токсичний при тривалому використанні, дія кальцитоніну дуже повільна. Дифосфонати ж позбавлені цих недоліків [21, 22, 23]. У США запропоновано ряд дифосфонатів як фармацевтичних препаратів для лікування людини і тварин, які страждають від метастазованого раку кісток. ОЕДФ можна застосовувати одночасно з радіо- і хіміотерапевтичними засобами, звичайно у вигляді ди- і тринатрієвих солей [16, 17, 26, 30]. Регулюючи проникність мембран, дифосфонати сприяють транспорту протипухлинних ліків у клітину, а отже, й сприяють ефективному лікуванню різних онкологічних захворювань [7, 8, 14, 18]. Становлять інтерес роботи з дослідження (на мишах і щурах) впливу дифосфонатів на остеоліз. Так, під дією  $\text{Na}_2$ -ОЕДФ і  $\text{Na}_2$ -ДХМДФ спостерігається інгібування лізису кісток, що виникає при пухлинному рості [17, 23].

*Бактерицидна й антивірусна активність.*

Пошук антивірусних і бактерицидних засобів в останні роки має особливу актуальність. Ці препарати можуть впливати на різноманітні структурні одиниці, що виконують природні функції в клітинах бактерій, зокрема на складові

частини цитоплазматичної мембрани, компоненти систем, які забезпечують перенесення інформації від ДНК до РНК. Проблема пошуку противірусних засобів ще складніша, тому що для реплікації віруси використовують ферменти клітини-хазяїна. Бактерицидні властивості часто виявляють речовини, що викликають виражені ушкодження цитоплазматичної мембрани [7, 8, 12]. У літературі описано антимутагенну активність дифосфонатів і пригнічення вірусної ДНК-полімерази [7, 14]. У результаті системного застосування антибіотиків розвивається резистентність бактерій до раніше ефективних препаратів. Поряд із з'ясуванням механізму цього явища ведеться широкий пошук нових препаратів. На резистентних бактеріях вивчають активність похідних фосфонової кислоти, зокрема композиції на основі Na-ОЕДФ. Виявлено також їх протизапальну дію [9, 13].

#### *Діагностичні препарати.*

Однією з найбільш актуальних проблем сучасної медицини є розробка експрес-діагностики різних захворювань. ОЕДФ виявилася ефективною в індикації ділянок підвищеного кісткового обміну, особливо при кісткових метастазах [22, 27] і хворобі Педжета [27]. Крім того, успішно використовують дифосфонати, мічені  $^{117}\text{Sn}$  [15, 30]; застосовують гетероядерні комплекси дифосфонатів  $^{99}\text{Tc}$ -Si-ОЕДФ і  $^{99}\text{Tc}$ -Co-ОЕДФ [15, 30]. Ці сполуки, що володіють явними перевагами перед іншими кістяковими маркерами, знайшли широке застосування в клінічній практиці. Досліджують вплив методу введення сканувального реагента  $^{99}\text{Tc}$ -ОЕДФ на його розподіл у тканинах [15, 27, 30]. Ймовірно є діагностика метастазів пухлин у кістках за кілька місяців до їх рентгенологічного виявлення [21, 23]. Цінна інформація може бути отримана при травматичних ушкодженнях кістяка. У цьому випадку ймовірними є оцінка ступеня і поширеності уражень та контроль за репаративними процесами.

#### *Інші галузі застосування ОЕДФ у медицині.*

Дифосфонати широко використовують для лікування ревматоїдних захворювань [7]. Ці сполуки особливо ефективні при застосуванні їх як протиаартритних засобів, у т. ч. в поєднанні із стероїдами чи іншими протизапальними засобами [13, 14].

У літературі описано антиатеросклеротичний ефект ОЕДФ, що проявляється в зниженні концентрації холестерину в плазмі людини і клітинних мембранах щурів при перебуванні останніх на атерогенній дієті [3, 7, 8].

Виявлено позитивну дію дифосфонатів на імунну систему, генетичний апарат клітини,

біосинтез простагландинів, стимуляцію циклу лимонної кислоти [7, 8, 13, 15, 26]. Вони знижують патологічну реакцію у відповідь на імунпатологічний вплив шляхом зменшення утворення антитіл секретуючими клітинами, зниження гіперчутливості тканин уповільненого і негайного типів. ОЕДФ пригнічує патологічну дію особливих генних токсинів (мітагенів) на функцію лімфоцитів у культурі тканини [3, 8]. В останні роки досить детально досліджують імуностимулювальну дію деяких представників класу дифосфонатів [8, 15, 26, 30]. Установлено, що калієва сіль ОЕДФ захищає Т-лімфоцити від імунного ушкодження, викликаного антилімфоцитарною сироваткою і комплементом, що, можливо, зумовлено зв'язуванням іонів  $\text{Ca}^{2+}$  [18, 20].

Колективом кафедри загальної хімії і полімерів Одеського національного університету під керівництвом професора Інни Йосипівни Сейфуліної був здійснений цілеспрямований синтез нових трикомпонентних координаційних сполук: оксиетилідендифосфонату германію з нікотиновою кислотою (МИГУ-4), нікотинамідом (МИГУ-5) і магнієм (МИГУ-6) [4, 11, 10]. Ми встановили їх низьку токсичність, скринінговими дослідженнями визначили високу біологічну активність комплексів [5]. Виявлено мембрано-протекторні, імуномодулюючі, гепато-, нейро- і кардіотропні ефекти [4, 5]. Відомо, що дифосфонати в організмі не метаболізуються, всмоктування їх у кишечнику людини і тварин рідко перевищує 10 % від введеної дози. Час напівперіоду виведення дифосфонатів із крові складає лише кілька хвилин. Таким чином, м'які тканини піддаються їх дії протягом дуже малого проміжку часу [18]. Нами була вивчена фармакокінетика МИГУ-4, -5 і -6. Установлено, що ОЕДФ у складі названих комплексів швидко всмоктується в організм експериментальних тварин. МИГУ-4, -5 і -6 відзначаються високою тканинною доступністю, не кумулюють в організмі, період напіввиведення складає 14-17 год.

Таким чином, проведений аналіз даних літератури дозволяє зробити висновок, що фосфороорганічні комплекси є малотоксичними сполуками, володіють високою і багатогранною біологічною активністю. Зі сказаного випливає, що вони, у ряді похідних фосфонової кислоти, можуть значною мірою впливати на процеси життєдіяльності організму тварин і людини, а також на перебіг ряду патологічних процесів. У зв'язку з цим, є підстава думати, що комплекси, перш за все ОЕДФ, безсумнівно, перспективні стосовно створення високоєфективних лікарських препаратів для боротьби з вірусними захворюваннями, лікування отруєнь

солями важких металів і радіоактивними елементами, патологічної кальцифікації м'яких тканин, остеопорозу, захворювань зубів і, можливо, онкологічних захворювань. Комплексні

сполуки МИГУ-4, -5 і -6 вимагають подальшого дослідження з метою застосування їх для лікування захворювань ЦНС, печінки, серцево-судинної системи і т.д.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Алексеева Н.В., Юрьева Э.А. Ксидифон – кальцийрегулирующий препарат // Рос. вестник перинатологии и педиатрии. – 1998. – № 5. – С. 34.
2. Бунчук Н.В. Фармакотерапия остеопороза // Рус. мед. журн. – 1999. – С. 34-39.
3. Валеева И.Х., Зиганишина Л.Е., Бурнашова З.А., Зиганишин А.У. Влияние демифосфана и ксидифона на показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы крыс, длительно получавших преднизолон // Эксперим. и клинич. фармакология. – 2002. – № 2. – С. 24-28.
4. Годован В.В., Кресюн В.И., Сейфуллина И.И., Волошенков Б.А. Поиск и создание новых БАВ в ряду координационных соединений германия с биолигандами // Праці наук.-практ. конф. "Досягнення сучасної фармації в медичну практику". – К., 2001. – С. 302-303.
5. Годован В.В., Щерба О.Е., Кресюн В.И., Волошенков Б.А. Протисудомна дія сполук германію (МИГУ-6) // Труды республиканской Конференции молодых ученых "Актуальные вопросы диагностики и лечения неотложных состояний". – Донецк, 2000. – С.24-25.
6. Дзеранов Н. Фармакотерапия мочекаменной болезни. – М., 2003. – 215 с.
7. Кабачник М.И., Дятлова Н.М., Медведь Т.Е., Бихман И.Б. Оксидэтилендифосфоновая кислота и её применение // Хим. пром. – 1995. – № 4. – С. 14-18.
8. Кресюн В.И., Волошенков Б.А. Гепатотропные эффекты нового класса БАВ оксидэтилендифосфата германия // Наукова конференція "Школа академіка О. Чукаса: ідеї, розвиток, перспективи". – К., 1994. – С. 57-58.
9. Мегдятов Р.С., Решетняк В.К., Хоженко Е.В. Влияние ксидифона на патогенез невралгии тройничного нерва. – М., 2002. – 142 с.
10. Сейфуллина И.И. Растворяющие и комплексообразующие функции органических кислот в направленном синтезе координационных соединений: Дис.... д-ра хим. наук. – Одесса, 1990. – 350 с.
11. Сейфуллина И.О., Марусенко Е.В., Илюхин А.Б. Синтез, свойства и строение комплексов германия с этилентриаминпентауксусной кислотой // Журнал неорганической химии. – 1998. – **43**, № 10. – С. 1628-1631.
12. Юрьева Э.А., Длин В.В., Османов И.М. Мембраностабилизирующие препараты в детской терапевтической практике // Рос. мед. журн. – 2001. – № 2. – С 15-17.
13. Юрьева Э.А., Дунаева И.П., Матковская Т.А. Лечение дерматомиозита отечественным препаратом ксидифоном // Рос. мед. журн. – 2001. – № 1. – С.11-14.
14. Юрьева Э.А., Матковская Т.А. О бифосфонатах как о лекарственных соединениях (по материалам международного конгресса в Нидерландах, 2001 г.) // Рос. вестник перинатологии и педиатрии. – 2001. – № 3. – С. 59.
15. Bataille R. Management of myeloma with bisphosphonates // Engl. J. Med. – 1998. – **334**, № 8. – P. 529-530.
16. Cascinu S., Casadei V., Del Ferro E. et al. Pamidronate in patients with painful bone metastases, who failed initial treatment with hormones and/or chemotherapy // Support Care Cancer. – 2000. – **4**, № 1. – P. 31-33.
17. Claudepierre P., Puechal X., Menkes C.J. Role of bisphosphonates in the treatment of tumoral osteolysis // Ann. Med. Intern. – 2001. – **146**, № 5. – P. 325-327.
18. Fleisch H. The bisphosphonate ibandronate, given daily as well as discontinuously, decreases bone resorption and increases calcium retention as assessed by <sup>45</sup>Ca kinetics in the intact rat // Osteoporos. Int. – 1999. – **6**, № 2. – P. 166-170.
19. Fujisaki J., Tokunaga Y., Takahashi T., et al. Osteotropic drug delivery system (ODDS) based on bisphosphonic prodrug. V. Biological disposition and targeting characteristics of osteotropic estradiol // Biol. Pharm. Bull. – 1999. – **20**, № 11. – P. 1183-1187.
20. Golomb G., Dixon M., Smith M.S. et al. Inhibition of bioprosthetic heart valve calcification by sustained local delivery of Ca and Na diphosphonate via controlled release matrices // ASAIO Trans. – 1999. – **32**, № 1. – P. 587-590.
21. Harvey H.A., Lipton A. The role of bisphosphonates in the treatment of bone metastases – the U.S. experience // Support Care Cancer. – 2001. – **4**, № 3. – P. 213-217.
22. Hiraga T., Takada M., Nakajima T., Ozawa H. Effects of bisphosphonate (pamidronate) on bone resorption resulting from metastasis of a squamous cell carcinoma: report of an autopsy case and evaluation of bone resorbing activity in an experimental animal model // J. Oral Maxillofac. Surg. – 2002 – **54**, № 11. – P. 1327-1333.
23. Hiraga T., Tanaka S., Yamamoto M. et al. Inhibitory effects of bisphosphonate (YM175) on bone resorption induced by a metastatic bone tumor // Bone. – 2000. – **18**, № 1. – P. 1-7.
24. Hughes D.E., Wright K.R., Uy H.L. et al. Bisphosphonates promote apoptosis in murine osteoclasts in vitro and in vivo // Bone Miner. Res. – 2002. – **10**, № 10. – P. 1478-1487.



25. Ishimura E., Miki T., Koyama H. et al. Effect of aminoxypropylidene diphosphonate on the bone metabolism of patients with parathyroid adenoma // *Horm. Metab. Res.* – 2003. – **25**, № 9. – P. 493-497.

26. Jantunen E., Laakso M. Bisphosphonates in multiple myeloma: current status; future perspectives // *Br. J. Haematol.* – 2003. – **93**, № 3. – P. 501-506.

27. Koizumi M., Ogata E. Bisphosphonate effect on bone scintigraphy // *J. Nucl. Med.* – 2000. – **37**, № 2. – P. 401.

28. Levy R.J., Schoen F.J., Lund S.A., Smith M.S. Prevention of leaflet calcification of bioprosthetic heart valves with diphosphonate injection therapy. Experimental studies of optimal dosages and therapeutic durations // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2001. –

**94**, № 4. – P. 551-557.

29. Podolska M., Bialecka W., Kwiatkowska-Puchniarz B., Tuszyńska E. Analysis of selected diphosphonic acid derivatives used in treatment of osteoporosis. Part I. Complexometric determination of diphosphonic acid derivatives // *Acta Pol. Pharm.* – 2003. – **54**, №4. – P. 267-272.

30. Van der Pluijm G., Vloedgraven H., van Beek E. et al. Bisphosphonates inhibit the adhesion of breast cancer cells to bone matrices in vitro // *Clin. Invest.* – 1999. – **98**, № 3. – P. 698-705.

31. Van der Wiele C., Goethals P., Volkaert A. et al. Co-EDTA renal imaging in rats // *Division of Nuclear Medicine, University Hospital Gent, Belgium.* – *Nucl. Med. Commun.* – 2000, Apr. – **21**, № 4. – P. 313-316

## ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВАНИИ ОКСИЭТИЛИДЕНДИФОСФОНОВОЙ КИСЛОТЫ

**В.И. Кресюн, И.И. Сейфуллина, А.Г. Видавская, Е.Ф. Шемонаева**  
ОДЕССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

### Резюме

*Анализ данных литературы позволяет заключить, что фосфорорганические комплексы являются малотоксичными соединениями, обладают высокой и многогранной биологической активностью. Из этого следует, что комплексы, в ряду производных фосфоновых кислот, могут оказывать большое влияние на процессы жизнедеятельности организма животного и человека, а также на течение многих патологических процессов. В этой связи есть основание полагать, что комплексы, и в первую очередь 1-оксиэтилидендифосфоновая кислота, являются, несомненно, перспективными в плане создания высокоэффективных лекарственных препаратов для борьбы с вирусными заболеваниями, лечения отравлений солями тяжелых металлов и радиоактивными элементами, патологической кальцификации мягких тканей, остеопороза, заболеваний зубов и, возможно, онкологических заболеваний.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** оксиэтилидендифосфоновая кислота, комплексон, комплексное соединение.

## PERSPECTIVES OF NEW OXYETHYLIDENDIPHOSPHONE ACID-BASED PHARMACEUTICALS CREATION

**V.Y. Kresyun, I.Y. Seifulina, G.G. Vidavska, K.F. Shemonayeva**  
ODESSA STATE MEDICAL UNIVERSITY

### Summary

*The literature data analysis allows to make the conclusion that phosphoorganic complexions are low-toxic compounds, have high and multisided biological activity. Complexions, in the row of phosphone acid derivates, may have great effect on the life-support processes in human or animal organism, as well as on the course of many pathologic processes. So, the complexions, first of all, 1-oxyethylidendiphosphone acid are considered to be perspective in creating highly effective pharmaceuticals for prevention of viral diseases, radioactive and heavy metals poisoning treatment, soft tissues pathological calcification, osteoporosis, dental pathologies and, probably, oncological pathologies.*

**KEY WORDS:** oxyethylidendiphosphone acid, complexion, complex compounds.

**Адреса для листування:** Г.Г. Видавська, вул. Ак. Філатова, 51, кв. 107, Одеса, 65074, Україна.



УДК 547.655.6

СИНТЕЗ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ КАРНОЗИНПОХІДНОЇ  
1,4-НАФТОХІНОНУ

А. Ель Ідріссі, Л.Р. Журахівська, Н.Г. Марінцова, Т.М. Тарас<sup>1</sup>, В.П. Новіков  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ЛЬВІВСЬКА ПОЛІТЕХНІКА, ЛЬВІВ  
ПРИКАРПАТСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ВАСИЛЯ СТЕФАНИКА, ІВАНО-ФРАНКІВСЬК<sup>1</sup>

*Описано синтез карнозинпохідної на основі 1,4-нафтохінону – сполуки з широким спектром біологічної активності.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: синтез, карнозинпохідна 1,4 нафтохінону, карнозин.

Дослідження в галузі синтезу нових біологічно активних сполук з подальшим пошуком серед них лікарських препаратів, розробка новітніх технологій їх одержання є актуальним завданням сьогодення.

Амінокислоти та їх похідні – клас біологічно активних природних сполук, використання яких в медичній практиці є ефективним та обґрунтованим при лікуванні широкого кола хвороб і патологічних станів. В теперішній час на стадії розробки та клінічної апробації перебуває ряд лікарських засобів на основі амінокислот та їх аналогів. Серед похідних амінокислот викликає неабиякий інтерес карнозин – природний дипептид, який виявляє широкий спектр фізіологічної дії. Властивості карнозину складають основу його лікувального ефекту. Є відомості про використання карнозину для лікування поліартритів, виразкової хвороби, есенціальної гіпертонії, катаракти тощо [1]. Проте в ряді випадків він є менш ефективним, ніж його похідні. Крім того, карнозин в організмі швидко руйнується під дією ферменту карнозинази. А при його внутрішньому використанні для досягнення фармакологічного ефекту необхідні великі дози цього дипептиду. Тому пошук нових комбінованих похідних природних дипептидів є цікавим як з теоретичної, так і з практичної точки зору.

© А. Ель Ідріссі, Л.Р. Журахівська, Н.Г. Марінцова, Т.М. Тарас, В.П. Новіков, 2004.

Одним з розділів сучасної фармацевтичної та органічної хімії, що динамічно розвивається, є хімія хіноїдних сполук, в якій важливе місце посідають нафтохінон та його похідні. Сполуки цього класу викликають інтерес завдяки фізіологічним, хімічним, фізико-хімічним властивостям, зокрема здатності до зворотного окисно-відновного процесу, що зумовлює різноманітну високу біологічну активність похідних 1,4-нафтохінону.

У зв'язку з особливою цінністю нафтохінонів та карнозину, незаперечний інтерес викликають дослідження синтезу сполук, що містять одночасно фрагменти карнозину і хіноїдну систему зв'язків, оскільки вони можуть бути потенційними лікарськими засобами.

Синтез 2-D,L-карнозил-3-хлор-1,4-нафтохінону здійснювали за схемою 1:

Будову синтезованих сполук підтверджено сучасними фізико-хімічними методами аналізу.

З метою перспективи подальшого практичного застосування 2-D,L-карнозил-3-хлор-1,4-нафтохінону було перевырено його на токсичність. Щодо одержаних даних можна зазначити, що отримана сполука, згідно з класифікацією [2], за величиною показника LD<sub>50</sub> може бути віднесена до низькотоксичних речовин, оскільки її показник LD<sub>50</sub> більший 500 мг/кг і перебуває в межах 540-650 мг/кг.

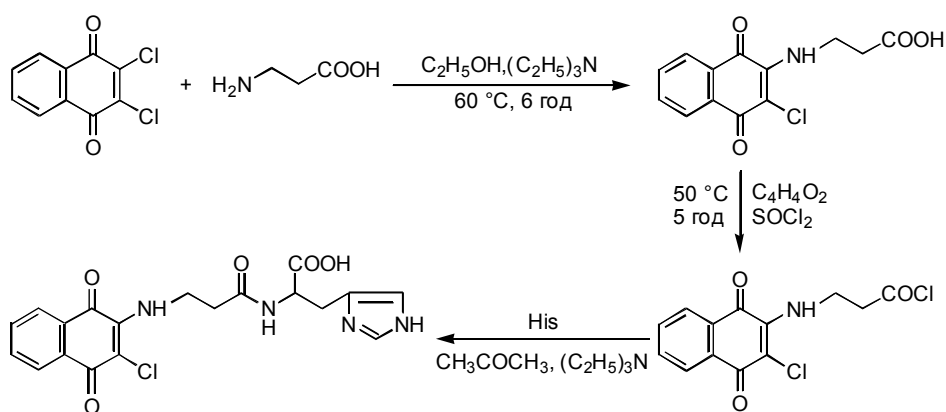


Схема 1. Синтез 2-D,L-карнозил-3-хлор-1,4-нафтохінону.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. А.А. Болдырев. Карнозин. Биологическое значение и возможности применения в медицине. – М.: Изд-во МГУ, 1988. – 320 с.
2. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения // Токсикология новых промышленных веществ. – 1973. – № 13. – С. 47 – 51.

## СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КАРНОЗИНПРОИЗВОДНОГО 1,4-НАФТОХИНОНА

**А. Эль Идрисси, Л.Р. Жураховская, Н.Г. Маринцова, Т.М. Тарас<sup>1</sup>, В.П. Новиков**  
 НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ЛЬВОВСКАЯ ПОЛИТЕХНИКА, ЛЬВОВ  
 ПРИКАРПАТСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ВАСИЛИЯ СТЕФАНИКА, ИВАНО-ФРАНКОВСК<sup>1</sup>

#### Резюме

Описано синтез карнозинпроизводного на основании 1,4-нафтохинона – соединения с широким спектром биологической активности.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: синтез, карнозинпроизводная 1,4 нафтохинона, карнозин.

## SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF CARNOSINE DERIVATIVE OF 1,4-NAPHTHOQUINONE

**A. El Idrissi, L.R. Zhurakhivska, N.H. Marintsova, T.M. Taras<sup>1</sup>, V.P. Novikov**  
 NATIONAL UNIVERSITY LVIVSKA POLYTECHNICA, LVIV  
 PRYCARPATHIAN UNIVERSITY BY VASYL STEPHANYUK, IVANO-FRANKIVSK

#### Summary

Synthesis of carnosine derivative on the basis of 1,4-naphthoquinone – compound with wide spectrum of biological activity has been described.

KEY WORDS: synthesis, carnosine derivative of 1,4-naphthoquinone, carnosine.

## ОСОБЛИВОСТІ СПІВВІДНОШЕННЯ КОРТИЗОЛУ ТА ТЕСТОСТЕРОНУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ СПЕЦИФІЧНОГО НАВАНТАЖЕННЯ ХОЛЕСТЕРИНОМ

О.А. Никифорова, В.П. Ляшенко  
ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

*У роботі обговорюються питання щодо змін у синтезі стероїдних гормонів за умов аліментарного навантаження холестерином. Встановлено певні розбіжності в динаміці вмісту кортизолу та тестостерону, що досить яскраво демонструють адаптаційні механізми, які мають місце в організмі щурів-самців.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: холестерин, стероїдні гормони, кортизол, тестостерон.

**ВСТУП.** Співвідношення між концентраціями стероїдних гормонів може визначати направленість фізіологічних процесів та можливі їх порушення [1, 4]. Цікавими є процеси перерозподілу в біосинтезі різних за своєю дією продуктів надниркових залоз – кортизолу та тестостерону – при холестериновому навантаженні, оскільки холестерин вважається ініціатором метаболічних зсувів в організмі тварин, є попередником стероїдних гормонів та лежить в основі адаптаційних реакцій організму в цілому.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Досліди проводили на щурах-самцях (n=114) масою 120-125 г. Їх було поділено на дві групи. 1-ша група – контрольна – 58 тварин. У щурів 2-ї групи (n=56) викликали аліментарне навантаження шляхом щоденного додавання до їжі холестерину (0,5 г/кг) та солей жовчних кислот (100 мг/кг) [5]. Експеримент тривав 21 тиждень. Паралельно у тварин обох груп здійснювали забір крові, в сироватці якої визначали рівень кортизолу, тестостерону методом твердофазового імуноферментного аналізу з використанням стандартних наборів реактивів [2]. Також проводили аналіз вмісту загального холестерину за методом Ілька [2]. Отримані дані експерименту обробляли статистично методом парних порівнянь. Результати оцінювали як достовірні при  $p < 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У щурів контрольної групи впродовж всього дослідження відбувалися незначні коливання рівня холестерину, які не виходили за межі норми для тварин цього виду і статі [4]. У тварин 2-ї групи в перші 12 тижнів реєструвалися незначні коливання вмісту холестерину з тенденцією до зростання, а на 15 тижні відзначалося різке підвищення його концентрації з подальшим незначним зменшенням цього показника на 21

тижні. Таку динаміку, можна пояснити адаптаційно-компенсаторними механізмами у відповідь на аліментарне навантаження [3]. Отже, у щурів 2-ї групи протягом усього експерименту рівень загального холестерину був не тільки вищим за контрольні значення, а й виходив за межі норми для цих тварин. Впродовж 21 тижня реєструвалися незначні коливання концентрації гормону, причому на початковому етапі – з тенденцією до зростання, а з 12 тижня – до зменшення. У тварин 2-ї групи він був меншим за контроль у 1,5-2 рази впродовж усього дослідження. Протягом 3-9 тижнів цей показник коливався в межах (1,1-1,2±0,04) нг/мл. Але, починаючи з 9 тижня і до кінця експерименту, він повільно знижувався і на 21 тижні складав (0,6±0,02) нг/мл. При аналізі змін вмісту тестостерону в щурів 2-ї групи на 3-12 тижнях було виявлено статистично достовірне зменшення цього показника на 26 % порівняно з контролем. На 15 тижні відмічалось невелике зростання вмісту гормону до (0,94±0,17) нг/мл, що незначно перевищувало контрольні показники ((0,90±0,04) нг/мл). Але з 15 до 21 тижня знову було зафіксовано зниження рівня тестостерону майже до контрольних величин.

За умов аліментарного навантаження і гіперхолестеринемії адаптаційно-компенсаторні механізми намагаються підтримувати холестериновий гомеостаз. Для цього існує декілька шляхів. Один з них – пригнічення синтезу власного ендогенного холестерину, наслідком чого може бути зменшення вмісту стероїдних гормонів, оскільки вони синтезуються саме з цього класу холестерину [1]. Низький рівень як тестостерону, так і кортизолу на перших етапах дослідження можна розцінити як результат вищезгаданих процесів.

Аліментарне навантаження викликає підвищення рівня ЛПНЩ і зниження вмісту ЛПВЩ [3]. Саме ЛПВЩ беруть участь у синтезі стеро-

їдних гормонів у щурів. Тому зафіксоване нами зменшення вмісту кортизолу і тестостерону може бути пов'язане саме з цими змінами гомеостазу ліпопротеїдів.

За умов тривалої дії несприятливого фактора відбуваються виснаження ресурсів, залучених в адаптаційно-компенсаторну функцію, та порушення механізмів, які лежать в їх основі [5]. При цьому необхідна активація відновлювально-анаболічних реакцій, тому, починаючи з 15 тижня, у тварин 2-ї групи відбувається посилене виділення тестостерону. Якщо розглядати співвідношення вмісту кортизолу та тестостерону за умов аліментарного навантаження холестерином, то можна зробити такі висновки. На фоні низького рівня кортизолу відбувається повільне зменшення вмісту тестостерону в сироватці

крові щурів 2-ї групи, що пояснюється змінами в гомеостазі ліпопротеїдів та спробою організму адаптуватися до нових умов існування. Але, починаючи з 15 тижня експерименту, картина змінюється на протилежну.

**ВИСНОВОК.** При тривалій дії холестеринового навантаження відбувається посилення процесів пероксидної окисації ліпідів, що призводить до порушення систем захисту організму, руйнування мембранних систем та розвитку багатьох патологічних станів. За таких умов можливе підвищення синтезу власного холестерину, що сприятиме відновленню стероїдогенезу в бік вироблення тестостерону та його похідних, оскільки саме він має відновлювально-анаболічні властивості [4].

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Алиджанова Х.Т., Дергачева Л.И., Босых Е.Г. Семейная гиперхолестеринемия и особенности функционального состояния надпочечников и щитовидной железы // Кардиология. – 1998. – № 9. – С. 12-16.

2. Базарнова М.А., Гетте З.П., Кальманова Л.И. Руководство по клинической лабораторной диагностике. – К.: Вища школа, 1990. – 319 с.

3. Герасимова Е.Н. Стероидные гормоны и

метаболизм липопротеидов // Арх. клин. эксп. мед. – 2000. – 9, № 1. – С. 54-61.

4. Трахтенберг И.М., Сова Р.Е., Шефтель В.О., Оникиенко Ф.А. Проблема нормы в токсикологии. – М.: Медицина, 1991. – 205 с.

5. Пат. 43978 А Україна, 7 G09B23/28. Спосіб моделювання атеросклерозу / Ляшенко В.П., Лукашов С.М., Зорова Ж.В., Політаєва В.І. – Заявл. 21.11.2000; Опубл. 15.01.2002, Бюл. № 1. – 3 с.

## ОСОБЕННОСТИ СООТНОШЕНИЯ КОРТИЗОЛА И ТЕСТОСТЕРОНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ ХОЛЕСТЕРИНОМ

**Е.А. Никифорова, В.П. Ляшенко**  
ДНЕПРОПЕТРОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

#### Резюме

*В работе обсуждаются вопросы, касающиеся изменений в синтезе стероидных гормонов в условиях алиментарной нагрузки холестерином. Установлены определенные различия в динамике содержания кортизола и тестостерона, которые достаточно ярко демонстрируют адаптационные механизмы, имеющие место в организме крыс-самцов.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** холестерин, стероидные гормоны, кортизол, тестостерон.

## PECULIARITIES OF HYDROCORTISOLE AND TESTOSTERON INTERRELATION IN RAT BLOOD SERUM UNDER CONDITIONS OF SPECIFIC LOAD BY CHOLESTEROL

**O.A. Nikiforova, V.P. Lyashenko**  
DNIPROPETROVSK NATIONAL UNIVERSITY

#### Summary

*The problems touching modifications in synthesis of steroid hormones under conditions of nutritional load by cholesterol are considered In the work. the particular differences in dynamics of hydrocortisone and testosterone content were fixed. They demonstrate well enough the adaptation mechanisms, which take place in the rats-males organism.*

**KEY WORDS:** cholesterol, steroid hormones, hydrocortisole, testosterone.

## ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СЛИНИ ПРИ ХРОНІЧНОМУ ПАРОДОНТИТІ

А.І. Гоженко, С.І. Доломатов, Є.Д. Бабов, І.Д. Атмажов  
ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

*Встановлено, що концентрація нітритів у слині пацієнтів з генералізованим пародонтитом зростає порівняно із практично здоровими особами й об'єктивно відображає важкість перебігу запального процесу. Показано, що вона є надійним діагностичним критерієм запального процесу в ротовій порожнині. При цьому вміст нітритів у слині об'єктивно відображає важкість перебігу запалення пародонта і збільшується в період загострення захворювання.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: людина, пародонтит, слина, нітрити.

**ВСТУП.** За даними літератури, питома вага пацієнтів із захворюваннями пародонта в різних популяціях коливається в межах 50 % населення [3]. Також відомо, що біохімічні показники слини є важливим діагностичним критерієм перебігу захворювань пародонта [4]. Проте подальший розвиток неінвазивних методів клінічних досліджень патологічних процесів, на нашу думку, є перспективним напрямком сучасної стоматології. Метою дослідження було вивчення стану біохімічних показників слини у хворих на хронічний пародонтит в залежності від перебігу захворювання.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Проведено біохімічні дослідження слини пацієнтів із хронічним генералізованим пародонтитом I-II ступенів у період ремісії (n=20) та у фазу загострення (n=17). До контрольної групи ввійшли практично здорові особи (n=10). У дослідженні брали участь чоловіки віком 25-40 років. У зразках слини визначали такі показники: осмоляльність – кріоскопічним методом на осмометрі 3D3 (США), концентрацію фосфатів – фотометрично в реакції з молібдатом амонію на спектрофотометрі СФ-46 (Росія), концентрацію кальцію – фотометрично в реакції з Арсеназо-III, молекули середньої маси – фотометрично після депротейнізації трихлороцтовою кислотою ( $\lambda=254$  і  $280$  нм). Нітрити слини визначали фотометрично із застосуванням реактиву Гриса

[2]. Статистичну обробку даних проводили за загально визначеною методикою з використанням критерію Стюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** За даними аналізу біохімічного складу слини (табл. 1), рівень осмоляльності зразків є досить сталою величиною і не має суттєвих міжгрупових відмінностей. Встановлено, що вміст кальцію в слині істотно не змінюється на тлі патологічного процесу, а концентрація фосфатів збільшується тільки під час загострення захворювання. На відміну від вищезгаданих параметрів, рівень молекул середньої маси зростає в групі пацієнтів залежно від ступеня важкості захворювання. Крім того, у хворих на хронічний генералізований пародонтит, порівняно з контрольною групою, відбувається збільшення концентрації нітритів у слині у 8 разів. Причому у фазі загострення захворювання даний показник перевищує контрольні значення у 20 разів. Як відомо, нітрити ендogenous походження є основним метаболітом молекули оксиду азоту [1, 5]. За даними літератури, молекулі оксиду азоту належить важлива роль у регуляції бар'єрних функцій слизових оболонок ротової порожнини [6]. З іншого боку, утворення нітритів в організмі розглядається як важливий маркер запального процесу [9]. Відомо, що відновлення нітратів до нітритів є постійною біохімічною реакцією, яка відбувається в ротовій порожнині за участю нітраторедуючої мікрофлори [7]. Наші дані не

© А.І. Гоженко, С.І. Доломатов, Є.Д. Бабов, І.Д. Атмажов, 2004.



дозволяють говорити про наявність регіонарних механізмів, що забезпечують кліренс оксиду азоту в ротовій порожнині за рахунок окиснення NO до нітритів. Проте ми можемо стверджувати, що значення концентрації нітритів у слині є надійним маркером перебігу

генералізованого пародонтиту. На нашу думку, доцільно відзначити, що, зважаючи на величину об'єму слини, яка утворюється у людини за добу, нітрити, що містяться в слині, можуть спричиняти негативний вплив на більш дистальні відділи травного тракту [8].

Таблиця 1 – Біохімічні показники слини хворих на хронічний генералізований пародонтит ( $M \pm m$ )

Показники, що вивчалися	Контрольна група, n=10	Фаза ремісії, n=20	Фаза загострення, n=17
Осмоляльність слини, мосмоль/кг H <sub>2</sub> O	100±6	105±3	108±7
Нітрити слини, мкмоль/л	7,2±0,4 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,01	58,7±1,1	145,1±8,9
Фосфати слини, ммоль/л	5,7±0,6 p <sub>2</sub> <0,01	6,3±0,4	7,8±0,4
Кальцій слини, ммоль/л	1,2±0,1	1,1±0,1	1,0±0,1
Молекули середньої маси (λ=254), од. екстинції	0,092±0,010 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,01	0,207±0,009	0,320±0,019
Молекули середньої маси (λ=280), од. екстинції	0,116±0,011 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,01	0,219±0,012	0,294±0,012

Примітка. n – кількість спостережень;

p<sub>1</sub> – показник достовірності відмінностей порівняно з хворими в стані ремісії;

p<sub>2</sub> – показник достовірності відмінностей порівняно з хворими в стані загострення.

**ВИСНОВКИ.** 1. Концентрація нітритів у слині є надійним діагностичним критерієм запального процесу в ротовій порожнині.

2. Вміст нітритів у слині об'єктивно відображає важкість перебігу запалення пародонта і зростає в період загострення захворювання.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Гоженко А.І. Роль оксиду азоту в молекулярно-клітинних механізмах функції нирок // Укр. біохім. журнал. – 2002. – **74**, № 4а. – С. 96.  
 2. Емченко Н.Л., Цыганенко О.И., Ковалевская Т.В. Универсальный метод определения нитратов в биосредах организма // Клин. и лаб. диагностика. – 1994. – № 6. – С. 19-20.  
 3. Иванов В.С. Заболевания пародонта. – М.: Медицинское информационное агентство, 2001. – 300 с.  
 4. Тарасенко Л.М., Суханова Г.А., Мищенко В.П., Непорада К.С. Слюнные железы (биохимия, физиология, клинические аспекты). – Томск: Изд-во научно-технической литературы, 2002. – 124 с.  
 5. Lauer Th., Preik M., Rassaf T. et al. Plasma nitrite rather than nitrate reflects regional endothelial nitric oxide synthase activity but lacks intrinsic vasodilator

action // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2001. – **98**, № 22. – P. 12814-12819.  
 6. Lundberg J.O. Airborne nitric oxide: inflammatory marker and aerocrine messenger in man // Acta Physiol. Scand. – 1996. – Suppl I. – P. 1-27.  
 7. Shapiro K.B., Hotchkiss J.H., Roe D.A. Quantitative relationship between oral nitrate-reducing activity and the endogenous formation of N-nitrosoamino acids in humans // Food Chem. Toxicol. – 1991. – **29**, № 11. – P. 751-755/  
 8. Tricker A.R., Pfundstein B., Preussmann R. Secondary amine precursors to nitrosamines in human saliva, gastric juice, blood, urine and faeces // Carcinogenesis. – 1992. – **13**, № 4. – P. 563-568.  
 9. Wettig K., Uhlig D., Broschinski L., Diener W. Nitrat. und Nitrit in Urin Speichel und Blut urologischer Patienten // Z. Urol. Nephrol. – 1989. – **82**, № 12. – P. 667-670.

## ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЛЮНЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПАРОДОНТИТЕ

А.И. Гоженко, С.И. Доломатов, Е.Д. Бабов, И.Д. Аتماзов  
ОДЕССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

### Резюме

Установлено, что концентрация нитритов в слюне у пациентов с генерализованным пародонтитом возрастает в сравнении с практически здоровыми лицами и объективно отражает тяжесть течения воспалительного процесса. Показано, что она является надежным диагностическим критерием воспалительного процесса в полости рта. При этом содержание нитритов в слюне объективно отражает тяжесть течения воспаления пародонта и увеличивается в период обострения заболевания.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: человек, пародонтит, слюна, нитриты.

## DIAGNOSTIC IMPORTANCE OF BIOCHEMICAL INDICES OF SALIVA DURING CHRONIC PARODONTITIS

A.I. Hozhenko, S.I. Dolomatov, Ye.D. Babov, I.D. Atmazhov  
ODESSA STATE MEDICAL UNIVERSITY

### Summary

It is ascertained that the concentration of nitrites in patients' saliva during generalized parodontitis increases when compared with practically healthy people, and reflects the severity of the inflammation course. It has been shown that the concentration of nitrites in saliva is a reliable diagnostic criterion of inflammation in the mouth cavity. At that, the content of nitrites in the saliva objectively reflects the severity of the disease course and increases in the period of worsening of pathological process.

KEY WORDS: human being, parodontitis, saliva, nitrites.

Адреса для листування: А.І. Гоженко, Одеський державний медичний університет, пров. Валіховський, 2, Одеса, 65100, 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, № 3, 2004

УДК УДК 591.413:587.95:612.65

## ОСОБЛИВОСТІ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ ПРИ СТАРІННІ В СУДИННІЙ СТІНЦІ ТА ПЛАЗМІ КРОВІ ЩУРІВ

О.В. Ніжанковська

ІНСТИТУТ ГЕРОНТОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, КИЇВ

Система оксиду азоту (NO) відіграє важливу роль у регуляції багатьох функцій організму. NO бере участь у регулюванні таких важливих процесів, як тонус гладеньких м'язів судин, нейротрансмісії, зниження агрегації тромбоцитів, реакції імунної системи тощо.

Відомо, що NO синтезується в організмі шляхом ферментативного окиснення L-аргініну роудиною NO-синтаз (NOS). Дія NO відбувається за рахунок як прямих ефектів, так і продуктів метаболізму: нітрат-, нітрит-аніонів, пероксинітриду тощо. Порушення в системі NO (ендотеліальна дисфункція) є передумовою розвитку атеросклерозу, ішемічної хвороби серця, серцевої недостатності, артеріальної гіпертонії, метаболічного синдрому X.

Відомо, що ці захворювання найбільш часто супроводжують процес старіння і характеризуються як вікозалежна патологія.

Тому метою нашого дослідження було вивчення вікових змін у системі NO судинної стінки та плазмі крові щурів.

Дослідження проводили на щурах-самцях двох вікових груп: 6-10-місячні – дорослі, 24-28-місячні – старі. Об'єктом дослідження були тканина аорти та плазма крові експериментальних тварин. Для оцінки змін зі сторони системи NO вивчали такі показники: рівні стабільних метаболітів NO (нітрат-, нітрит-аніони), а також ферментативну активність ендотеліальної (eNOS) та індукцибельної (iNOS) NOS.

Встановлено, що з віком знижуються рівні стабільних метаболітів NO в плазмі крові: рівень

нітрат-аніона становить у дорослих ( $7,03 \pm 0,31$ ) нмоль/л, у старих щурів – ( $4,30 \pm 0,33$ ) нмоль/л. Аналогічні зміни відбуваються і в судинній стінці, де рівень  $\text{NO}_2^-$  складає: у дорослих – ( $1,30 \pm 0,09$ ) нмоль/мг б., у старих тварин – ( $0,79 \pm 0,03$ ) нмоль/мг б. Також виявлено закономірні зміни з боку ферментативної активності NOS в плазмі крові щурів різного віку: у дорослих – ( $149 \pm 17,8$ ) нмоль/хв/л, у старих – ( $92,2 \pm 10,1$ ) нмоль/хв/л.

Встановлено, що з віком в судинній стінці відбуваються різноспрямовані зміни активності eNOS та iNOS: у дорослих щурів активність eNOS складає ( $181,3 \pm 21,7$ ) нмоль/хв/мг білка, у старих – ( $94,5 \pm 11,3$ ) нмоль/хв/мг білка;

активність iNOS у дорослих тварин становить ( $146 \pm 17,9$ ) нмоль/хв/мг білка, у старих – ( $222,0 \pm 25,6$ ) нмоль/хв/мг білка.

Тобто з віком знижується рівень eNOS та зростає активність iNOS, які регулюють функціональний стан судинної стінки. Зростання ферментативної активності iNOS у старих щурів може свідчити про надлишкову продукцію пероксинітриду, який є вагомим чинником розвитку атеросклеротичних уражень.

Таким чином, при старінні спостерігаються закономірні порушення зі сторони системи NO. Можна вважати, що це пов'язано зі змінами самих ендотеліоцитів, зниженням активності eNOS, зсувами в кальцієвому обміні. Все це призводить до порушень ендотеліозалежної вазодилатації і виникнення патологічних змін з боку серцево-судинної системи.

© О.В. Ніжанковська, 2004.

**ВПЛИВ КАЛЬЦИТРИОЛУ НА BRCN-ФРАГМЕНТИ КОЛАГЕНУ КУРЧАТ****Л.Б. Бондаренко, Г.Л. Гайдай***ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ*

Кальцитриол ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ), гормонально активна форма вітаміну  $\text{D}_3$ , відіграє важливу роль у регуляції цілого ряду обмінних процесів у організмі, регулює синтез специфічних білків кісткової тканини, спричиняє кількісні зміни у метаболізмі колагенових білків різних типів і якісні зміни їх первинної структури, що позначається на процесах росту та розвитку організму, диференціації клітин та визначенні певного фенотипу організму. Метою даної роботи було визначення впливу кальцитриолу на склад BrcN-фрагментів колагенів I типу курчат. Експерименти проводили на курчатах Хайсекс білий крос у перший місяць їх життя. 1-ша група (рахіт) одержувала лише основний раціон, позбавлений вітаміну  $\text{D}_3$ , 2-га – цей же раціон і перорально щоденно по 10 МО вітаміну  $\text{D}_3$  в 0,1 мл пропіленгліколю на птаха, курчата третьої групи одержували основний раціон і

перорально щоденно по 2,5 МО  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  в 0,1 мл пропіленгліколю на птаха. Препарати вводили протягом 20 діб. Колаген I типу шкіри курчат виділяли за методом диференціальної преципітації та одержували його BrcN-фрагменти. Після розділення фрагментів на сефадексі G-50 було одержано по 6 фракцій пептидів. У результаті вивчення на амінокислотному аналізаторі амінокислотного складу BrcN-фрагментів колагену I типу виявлено доставку відмінності у складі BrcN-фрагментів I та III зон елюції (з молекулярними масами 36 000-27 000 та 5000-3000) при введенні вітаміну  $\text{D}_3$  та  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  порівняно з рахітом. Ефект  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (2,5 МО/день) вірогідно не відрізнявся від впливу самого вітаміну  $\text{D}_3$  (10 МО/день) на якісний склад BrcN-фрагментів (з молекулярними масами 36 000-27 000 та 5000-3000) колагенів I типу шкіри курчат.

**ПОРІВНЯННЯ АНТИОКСИДАНТНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ СПОЛУК  
У МОДЕЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ.**

**Н.С. Кавок, В.М. Вакула, В.Г. Калінін, Н.О. Карпенко, Ф.Г. Яременко**  
*ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ЕНДОКРИННОЇ ПАТОЛОГІЇ ІМ. В.Я. ДАНИЛЕВСЬКОГО  
АМН УКРАЇНИ, ХАРКІВ*

---

У модельних експериментах із застосуванням реакції автоокиснення кверцетину в лужних умовах було проведено порівняльний аналіз антирадикальних властивостей окремих похідних гетероциклів, що виявляють здатність до рециклізації і таутомерії у розчинах, з метою перевірки придатності цієї модельної системи для використання у скринінгових дослідженнях синтезованих сполук з передбачуваною активністю. Зміни оптичної щільності інкубаційної суміші, що відбуваються в ході реакції, реєстрували спектрофотометричним методом. Розраховували ступінь гальмування реакції стосовно контрольної проби. Антиоксидантну активність похідних у концентрації  $10^{-6}$ - $10^{-4}$  моль/л оцінювали порівняно з аскорбіновою кислотою та іонолом. Установлено, що в максимальній ефективній концентрації здатність сполук ЯВ-14, ЯВ-18 та ЯВХ гальмувати окиснення кверцетину є аналогічною або дещо слабшою від такої аскорбінової кислоти в тих же умовах.

Гальмівний ефект іонолу був менш вираженим і слабшим за ефекти всіх досліджених сполук. На відміну від цього, похідна В-31 посилювала процес окиснення кверцетину, що може свідчити про її здатність виявляти за певних умов прооксидантні властивості. Гальмівні ефекти, що спостерігалися, ймовірно, пояснюються утворенням молекулярних форм досліджених похідних, які можуть бути пастками вільних радикалів. Таким чином, одержані результати дозволяють оцінити якісні характеристики та ступінь впливу окремих гетероциклів на вільнорадикальні процеси, що свідчить про ефективність даної модельної системи для дослідження антирадикальних властивостей окремих сполук. Отримані дані дають підставу для проведення подальших досліджень у цьому напрямку з метою прогнозування властивостей синтезованих речовин та направленою пошуку сполук із заданими характеристиками.



## ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИРАДИКАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ПОХІДНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІВ З АНТИТИРЕОЇДНОЮ АКТИВНІСТЮ

**Н.С. Кавок, В.М. Вакула, В.Г. Калінін, Ф.Г. Яременко, Н.О. Карпенко**  
*ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ЕНДОКРИННОЇ ПАТОЛОГІЇ ІМ. В.Я. ДАНИЛЕВСЬКОГО  
АМН УКРАЇНИ, ХАРКІВ*

---

У ході попередніх скринінгових досліджень серед похідних гетероциклів були виявлені сполуки з найбільш вираженою антитиреоїдною активністю – з умовними позначками ЯВ-14 та ЯВ-18. З огляду на структурні особливості цих похідних та важливу роль активних форм кисню в регуляції тиреоїдного гормоногенезу, становило інтерес визначення антирадикальної активності нових потенційних тиреостатиків. Дослідження проводили на модельній системі спонтанної генерації супероксидних радикалів при автоокисненні кверцетину в лужних умовах. Показники визначали спектрофотометричним методом. Було використано концентрації препаратів у діапазоні  $10^{-6}$ - $10^{-4}$  моль/л. Оцінку антирадикальної активності сполук проводили порівняно з аскорбіновою кислотою у тих же експериментальних умовах. Отримані дані виражали в умовних одиницях, за одиницю антирадикальної ак-

тивності брали пригнічення процесу на 50 % відносно контролю.

Було встановлено, що, на відміну від стандартного антитиреоїдного препарату мерказолілу, ЯВ-14 та ЯВ-18 виявляють дозозалежну антирадикальну активність. При концентрації сполук  $10^{-4}$  моль/л ступінь гальмування автоокиснення кверцетину в цих умовах був подібним до такого аскорбінової кислоти й у кілька разів перевищував антирадикальну здатність мерказолілу. Таким чином, проведені модельні експерименти свідчать про наявність антирадикальних властивостей у досліджуваних гетероциклічних сполук, причому ступінь вираження антирадикального ефекту визначається особливостями хімічної будови сполук. Можливо у клітинах щитоподібної залози механізм регуляторного впливу препаратів частково опосередковується їх участю в процесах неферментативної дисмутації супероксидних радикалів.

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ МОЖЛИВОСТІ ЗНИЖЕННЯ  
ГЕПАТОТОКСИЧНОСТІ ІЗОНІАЗИДУ ПРИ ПОВТОРНОМУ ВВЕДЕННІ**

**Г.М. Шаяхметова, Л.Г. Бережна, В.М. Коваленко,  
А.К. Вороніна, О.С. Волошина, І.С. Блажчук**  
*ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, КИЇВ*

Ізоніазид (ІЗН), який широко застосовується для лікування та профілактики туберкульозу має широкий спектр побічних проявів: лихоманка, висипка, аутоімунні реакції, гострий панкреатит, порушення ЦНС та дисфункція печінки з проявами жовтяниці. При цьому негативний вплив ІЗН на печінку є одним з найпоширеніших його побічних ефектів поряд з порушеннями центральної нервової системи. Якщо для профілактики останніх використовується піридоксин, то цілеспрямоване зниження гепатотоксичної дії ІЗН залишається актуальною проблемою.

Метою даної роботи було дослідити гепатопротекторний вплив експериментальної полівітамінної композиції (МВ) за умов повторного внутрішньочеревинного введення ІЗН (50 мг/кг) протягом 28 днів щурам-самцям лінії Вістар.

Показано, що за даних умов відбувалося зниження загального вмісту цитохрому Р-450 у постмітохондріальній (ПМХ) фракції печінки на 34 %. На цьому фоні активність N-анілінгідроксилази зростала у 2,2 рази. Це свідчить про індукцію біосинтезу ізоформи Р-450 2E1, а отже, збільшення утворення гепатотоксичних

метаболітів туберкулостатику. При дії ІЗН швидкість індукованого аскорбатом накопичення продуктів реакції з ТБК зростала майже на 40 % порівняно з інтактними тваринами. Поряд із цим знижувалася на 17 % концентрація SH-груп білків у гомогенаті печінки, можливо, внаслідок їх ковалентної модифікації або вільнорадикального окиснення. Через 24 год після останнього введення ІЗН спостерігалось зростання аланінамінотрансферазної активності сироватки крові майже вдвічі, що цілком узгоджується з наведеними вище даними та свідчить про розвиток патологічних процесів у печінці. Лікувально-профілактичне внутрішньошлункове введення МВ сприяло підвищенню рівня цитохрому Р-450 у 1,4 рази. Разом із тим, активність N-анілінгідроксилази знижувалась на 25 %, порівняно з контролем, а показники ПОЛ, вмісту SH-груп білків та активність АлАТ залишались на рівні інтактної групи.

Таким чином, показано можливість зниження гепатотоксичності ІЗН за рахунок як інгібування механізмів утворення його токсичних метаболітів на першій фазі біотрансформації, так і антиоксидантних та антирадикальних властивостей МВ.

## ЗАЛЕЖНІСТЬ ЕЛЕКТРОЛІТНОГО СКЛАДУ СЕРЦЯ ПЛОДІВ ВІД АНАЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ У ВАГІТНИХ ТВАРИН

М.О. Захаренко, О.М. Тупицька  
НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, КИЇВ

Водно-сольовий гомеостаз плода тісно пов'язаний з таким у вагітних тварин, оскільки забезпечується кров'ю матері через плаценту. Враховуючи, що електроліти є важливими регуляторами кислотно-лужного стану, осмо-регуляторних і трансмембранних процесів, цікаво було простежити за особливостями електролітного складу серця вагітних тварин і плодів.

Досліди виконано на щурах лінії Вістар із масою тіла 150-200 г і пізніми строками вагітності (2-3 дні до пологів). Рівень електролітів визначали за допомогою атомно-абсорбційного спектрофотометра ААС-30 (Німеччина).

М'язи серця, на відміну від печінки та скелетних м'язів, до кінця ембріонального розвитку майже сформовані, оскільки функціонування серця плода є необхідною умовою нормального ембріонального розвитку організму. Рівень  $\text{Na}^+$  у серці плода вищий на 280 % порівняно з вагітними тваринами. Аналогічні зміни спостерігаються і за вмістом калію, концентрація якого в серці плода більша на 270 % порівняно з такими показниками у вагітних тварин. Підвищення рівня  $\text{Na}^+$  та  $\text{K}^+$  у м'язах серця плодів, порівняно з вагітними

тваринами, ймовірно, зумовлене меншою кількістю органічної речовини на 1 кг маси серця плодів.

Разом із тим, концентрація кальцію в цьому органі у плодів вища на 338 %, а неорганічного фосфору – на 39 % порівняно з аналогічними показниками в серці вагітних щурів.

На наявність у цьому органі певних особливостей іонодепонуючої функції серця плодів вказує підвищення рівня міді на 50 %, збільшення концентрації свинцю на 435 % та марганцю – на 33 % порівняно з такими показниками у вагітних тварин. Вміст кадмію в серці плодів нижчий на 274 %, а рівень цинку – на 34 % порівняно з вагітними тваринами. При цьому концентрація магнію в серці плодів і вагітних щурів не змінюється.

На основі отриманих даних можна зробити висновок про пряму залежність електролітного складу тканин плодів від аналогічних показників у вагітних тварин. Проте до кінця антенального періоду розвитку плода системи, що контролюють водно-сольовий гомеостаз організму, сформовані не повністю, а їх остаточне вдосконалення відбувається в ранньому постнатальному онтогенезі.

## КОРИГУЮЧИЙ ВПЛИВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПОЛІВІТАМІННОЇ КОМПОЗИЦІЇ НА МЕТАБОЛІЗМ ЛІПІДІВ ТА МЕМБРАНИ КЛІТИН ПЕЧІНКИ ПРИ ОТРУЄННІ ПАРАЦЕТАМОЛОМ НА ФОНІ ХРОНІЧНОГО АЛКОГОЛІЗМУ

**Л.Б. Бондаренко, А.К. Вороніна, Г.М. Шаяхметова, В.М.Коваленко**  
*ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, КИЇВ*

У механізмах реалізації токсичної дії парацетамолу, поряд із ковалентним зв'язуванням його високореактивного метаболіту N-ацетил-4-бензохіноніміну з макромолекулами гепатоцитів, значна роль належить активації вільнорадикальних процесів та зумовленому ними оксидативному стресу. В присутності етанолу, що є індуктором цитохрому P-450 2E1, зростає токсичність парацетамолу і, як наслідок, ступінь ураження печінки за рахунок збільшення інтенсивності утворення N-ацетил-4-бензохіноніміну і послаблення детоксикаційних систем організму. Метою даної роботи було вивчення можливості корекції порушень процесів перекисного окислення ліпідів, стану та складу мембран клітин печінки при ураженні органа парацетамолом на фоні хронічного алкоголізму та застосування експериментальної полівітамінної композиції. В експериментах використовували білих щурів-самців (160-170 г): 1-ша

група – інтактні тварини, 2-га – тварини, яким одноразово *per os* вводили парацетамол (500 мг/кг), 3-тя – алкоголізовані тварини, яким аналогічно вводили парацетамол, 4-та група – алкоголізовані тварини, яким одночасно з парацетамолом вводили експериментальну полівітамінну композицію (50 мг/кг). У результаті проведених досліджень показано, що алкоголізація тварин призводить до інтенсифікації процесів перекисного окислення ліпідів, підвищення активності ферментів-маркерів цілісності мембран гепатоцитів (АЛТ, АСТ) і маркера холестазу (5'-нуклеотидази), порушення вмісту фосфоліпідів та холестерину в сироватці крові та мембранах мітохондрій. Застосування експериментальної полівітамінної композиції дозволяє нормалізувати досліджувані показники, що свідчить про наявність у неї чіткого антиоксидантного і мембранопротекторного ефектів.

## ВПЛИВ НЕОНАТАЛЬНОЇ ГІПЕРГОНАДОТРОПІЗАЦІЇ НА СТАТЕВУ СИСТЕМУ ДОРΟΣЛИХ ТВАРИН

**Є.М. Коренева**

*ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ЕНДОКРИННОЇ ПАТОЛОГІЇ ІМ. В.Я. ДАНИЛЕВСЬКОГО  
АМН УКРАЇНИ, ХАРКІВ.*

Не викликає сумніву той факт, що зміна гормонального статусу у ранньому онтогенезі шкідливо впливає на постнатальний розвиток дитини, що в подальшому відбивається на функціонуванні репродуктивної системи дорослих осіб. У зв'язку з цим програмування захворювань і значення ендокринних де-структорів, що діють в перинатальному періоді, щодо розвитку патологічного процесу є важливою проблемою сучасності. Гонадотропіни відіграють особливу роль у підтримці секреторної активності сім'яників та маскулінізації гіпоталамуса андрогенами в критичні періоди статевої диференціації. Зміна їх рівня на ранніх етапах розвитку пов'язана з програмованим ефектом статевих гормонів. Метою нашої роботи було вивчення впливу неонатальної дисгонадотропінізації на розвиток чоловічої статевої системи.

У роботі використано 30 статевозрілих щурів-самців популяції Вістар, яким на 3-5 день після народження вводили один раз на добу хоріогонін (ХГ) у дозі 20 од на 100 г маси тіла, контролем були тварини, які отримували фізіологічний розчин у дозі 0,2 мл. Контрольну групу склали інтактні щури, які утримувались у однакових із піддослідними тваринами

умовах. Після декапітації у віці 121 день у тварин екстрагували андрогенреагуючі органи, вивчали запліднювальну спроможність сім'яної рідини, визначали рівень фруктози у сім'яних пухирцях.

Виявлено, що неонатально застосований ХГ викликав достовірне зниження маси сім'яників та епідидимісів. При вивченні пошкоджувального впливу екзогенної дисгонадотропінізації на спермограму щурів відзначено, що кількість сперматозоїдів в 1 мл сім'яної рідини майже втричі нижча за таку в інтактних тварин, до того ж змінювались рухливості сперміїв, яка зменшувалась і за якісними показниками (спостерігалось збільшення патологічних форм сперматозоїдів). Незважаючи на те, що маса сім'яних пухирців не знижувалась, вміст фруктози та її концентрація у тварин, які отримували екзогенно гонадотропін, знижувались ( $P < 0,001$ ), що зменшувало енергозабезпеченість життєдіяльності сперміїв.

Таким чином, дисгонадотропінізація, викликана призначенням ХГ у неонатальний період, призводить до порушення статевого розвитку дорослих щурів-самців, кількісного, якісного та біохімічного складу сім'яної рідини, що може спричиняти зниження фертильності чоловічого організму.



## КОРИГУЮЧИЙ ВПЛИВ КОРОТКОЛАНЦЮГОВОГО ПРЕПАРАТУ ВІТАМІНУ Е НА ІНТЕНСИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ЗА ДІЇ ІОНІЗУЮЧОГО ОПРОМІНЕННЯ

Г. Клевета, Я. Чайка

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ІВАНА ФРАНКА

Незважаючи на велику кількість відомостей про широкий спектр біологічної та терапевтичної дії вітаміну Е в організмі людини і тварин, літературні дані щодо його радіопротекторних властивостей за умов опромінення є досить суперечливими.

Метою роботи було оцінити ефективність коригувальної дії коротколанцюгового аналога вітаміну Е на інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) в ентероцитах тонкої кишки за умов хронічного впливу малих доз радіації.

Тварин опромінювали впродовж 30-ти днів у щодобовій дозі 1 сГр на апараті РУМ-17. Препарат вітаміну Е з довжиною бічного ланцюга 6 атомів вуглецю (С6) вводили per os, у дозі 10 мкмоль/100 г маси тіла один раз на три дні

впродовж опромінення. Активність процесів ПОЛ оцінювали за вмістом дієнових кон'югат (ДК) та ТБК-позитивних продуктів.

Застосування вітаміну Е (С6) на фоні щодобового опромінення супроводжувало зменшенням вмісту ДК в ентероцитах на 20-30 доби експерименту, відповідно, у 6,7 та 8,6 разів, порівняно з таким за умов опромінення. Концентрація ТБК-позитивних продуктів знижувалася на 20 добу у 2,4 рази. Таким чином, отримані результати підтверджують антиоксидантний ефект вітаміну Е (С6) за умов опромінення, однак його дія реалізовується головним чином у термінальні строки експерименту. Очевидно, на інтеграцію досліджуваного препарату в біліпідний шар, а отже, і на прояв його властивостей, впливає довжина бічного ланцюга.

## ВПЛИВ ДОВГОТРИВАЛОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ НА ВМІСТ МОЛЕКУЛ СЕРЕДНЬОЇ МАСИ У ПЛАЗМІ КРОВІ ЩУРІВ

К.П. Дудок<sup>1</sup>, О. М. Мороз<sup>3</sup>, І.Й. Влох<sup>3</sup>, О.Р. Влох<sup>2</sup>,  
Н.М. Гринчишин<sup>3</sup>, М.М. Особа<sup>1</sup>

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ ІВАНА ФРАНКА<sup>1</sup>  
ІНСТИТУТ ФІЗИЧНОЇ ОПТИКИ МОН УКРАЇНИ<sup>2</sup>  
ЛЬВІВСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО<sup>3</sup>

В останні роки накопичена значна кількість даних, які засвідчують, що в патогенезі багатьох захворювань, таких, як отруєння, травми, голодування, загострений туберкульоз, опіки, гнійні захворювання, алкогольна інтоксикація тощо, у плазмі крові з'являється особлива група сполук – молекули середньої маси (МСМ).

Нами проведені дослідження вмісту МСМ у плазмі крові щурів у нормі та за умов тривалої алкогольної інтоксикації. Тривалість інтоксикації – 1-6 місяців. Визначали вміст МСМ у плазмі крові батьківського, першого, другого та третього поколінь тварин, які замість води приймали 15 % розчин етилового спирту. В досліджах використовували безпородних білих щурів масою 250-300 г, яких утримували на раціоні віварію. Щурів для дослідів відбирали за схильністю до вживання алкоголю, застосовуючи "двопляшковий метод". Піддослідних тварин поділили на 5 груп. До 1-ї групи ввійшли інтактні тварини; до 2-ї – тварини, які протягом 1-6 місяців споживали алкоголь; до 3-ї – покоління щурів, яке виросло після спарювання одномісячного алкоголізованого покоління; до 4-ї – друге покоління щурів, яке виросло після спарювання трьохмісячного алкоголізованого першого покоління; до 5-ї – третє покоління

алкоголізованих щурів, яке виросло після спарювання другого покоління.

Показано, що вміст МСМ у плазмі крові контрольних щурів становить  $(1,78 \pm 0,12)$  г/л. Після одномісячного споживання алкоголю він МСМ підвищився до  $(4,10 \pm 0,27)$  г/л. Після двоп'ятимісячної алкоголізації рівень МСМ перебував у межах  $3,62-3,80$  г/л. За шестимісячної алкоголізації кількість МСМ у плазмі крові знижувалась до  $(2,40 \pm 0,21)$  г/л. Вміст МСМ у плазмі другого покоління алкоголізованих щурів зростав у  $1,78-2,38$  рази порівняно з контролем. У дослідях, де перше потомство замість алкоголю три місяці споживало воду, рівень МСМ дещо знижувався, але перевищував контрольний в  $1,47$  рази. Збільшення вмісту МСМ спостерігали й у третього покоління алкоголізованих щурів. Третє покоління, яке споживало воду протягом трьох місяців, також характеризувалося високим вмістом МСМ  $(2,79 \pm 0,15)$  г/л проти  $(1,62 \pm 0,03)$  г/л у контролі).

Одержані дані дозволяють зробити висновок, що підвищення вмісту МСМ у плазмі крові потомства щурів за алкогольної інтоксикації свідчить про глибокі порушення метаболічних процесів, які можуть бути пов'язані зі змінами на генетичному рівні.

## ВМІСТ ПОЛІАМІНІВ У СЕЧІ ХВОРИХ, ПРООПЕРОВАНИХ З ПРИВОДУ РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ, ТА ЇХ ВИЖИВАННЯ

**Н.А. Александрова, С.П. Залеток**

*ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ, ОНКОЛОГІЇ ТА РАДІОБІОЛОГІЇ  
ІМ. Р.Е. КАВЕЦЬКОГО НАН УКРАЇНИ, КИЇВ*

Внутрішньоклітинні поліаміни (спермін, спермідин і путресцин) відіграють у клітині унікальну роль. Інтенсивний синтез та накопичення цих сполук відбуваються у самій тканині пухлини, у суміжних органах, які не є злоякісними, а також у біологічних рідинах організму, де прогресує ріст пухлин.

Метою дослідження був статистичний аналіз даних, що стосуються вмісту поліамінів у сечі пацієнтів (57 осіб), прооперованих з приводу раку молочної залози, а також перевірка припущення про те, що існує співвідношення між вмістом поліамінів у сечі цих пацієнтів та їх 5- і 10-річним виживанням.

Вміст поліамінів визначали методом флуориметрії їх (ущільнених) похідних, використовували метод тонкошарової хроматографії. Застосовували такі статистичні підходи: аналіз

основних компонентів, метод достовірного прогнозування, що базується на теоремі Бейєра, та елементарні методи статистичної оцінки.

Показано чітке співвідношення між збільшенням вмісту поліамінів та скороченням інтервалу життя. На основі вмісту трьох поліамінів (сперміну, спермідину та путресцину) введено сумарний показник поліамінів. Цей показник найкращим чином враховує мінливість концентрації поліамінів.

Зроблено висновок про те, що можна здійснювати достовірне прогнозування виживання пацієнтів на основі сумарного показника поліамінів. Отримані теоретичні дані можна застосовувати для більш точного прогнозування виживання кожного окремого хворого на основі його показника поліамінів. Це буде корисним при виборі стратегії подальшого лікування.

## ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНІ МЕХАНІЗМИ ТОКСИЧНОЇ ЗАГИБЕЛІ КЛІТИН ПЕЧІНКИ ТА ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Ю.І. Губський, О.В. Задоріна, Л.В. Яніцька  
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ

У зв'язку зі збільшенням забруднення навколишнього середовища і безпосереднім надходженням високотоксичних ксенобіотиків в організм людини та тварин, важливою проблемою в медичній біохімії є розкриття молекулярно-біологічних механізмів загибелі клітин за ураження цими сполуками. Основна роль у механізмах токсичної загибелі клітин належить вільнорадикальній модифікації біомолекул – ліпідів, білків та нуклеїнових кислот, яка супроводжується порушеннями кінетичних властивостей ферментів і надмолекулярних субклітинних комплексів та дезорганізацією метаболічних процесів.

Наведено дані досліджень щодо молекулярних механізмів ушкодження клітин печінки та головного мозку щурів за гострої інтоксикації біоцидними ксенобіотиками: тетрахлорметаном, 1,2-дихлоретаном, фосфорорганічними сполуками та іонами кадмію. Виділено основні біохімічні етапи в реалізації механізмів токсикогенезу сполуками зазначених класів: утворення за участю однієї з ізоформ цитохрому Р-450 вільнорадикальних метаболітів ксенобіотиків та активних форм кисню; взаємодія хімічно активних метаболітів із чутливими

сайтами ДНК та інших компонентів ядерного хроматину; активація реакцій вільнорадикального окиснення фосфоліпідів клітинних мембран, ліпідних та інших молекулярних компонентів хроматину; зміни жирнокислотного складу ліпідів мітохондрій та мікросом, модифікація фізико-хімічних властивостей біоструктур; порушення конформації та ферментативних властивостей білків, що функціонують у складі мембран та хроматину; зміни в компартменталізації іонів  $Ca^{2+}$ , активація  $Ca^{2+}$ - та циклонуклеотидозалежних біохімічних систем клітин.

Вивчено зміни за дії тетрахлорметану, 1,2-дихлоретану, фосфороорганічних сполук та іонів кадмію в молекулярній організації та функціонуванні транскрипційно активної та репресованої фракції хроматину, а також у жирнокислотному складі ліпідів мітохондрій та мікросом печінки і головного мозку. Наведено результати експериментальних досліджень, що свідчать про можливість корекції вільнорадикального ушкодження ксенобіотиками клітин печінки та головного мозку шляхом застосування природних та синтетичних антиоксидантів, зокрема похідних піридинкарбонових кислот.

## РОЛЬ ВУГЛЕВОДІВ КОРМІВ У ПРОДУКЦІЇ МЕТАНУ МІКРООРГАНІЗМАМИ РУБЦЯ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Л.І. Сологуб, Г.О. Богданов, І.В. Лучка, М.Г. Герасимів  
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН УААН, ЛЬВІВ

Серед продуктів життєдіяльності мікроорганізмів рубця у жуйних тварин є метан, який продукується архебактеріями й емітується в атмосферу. На його утворення затрачається енергія кормів, що значно підвищує їх собівартість. Крім цього, метан є "парниковим" газом, який впливає на клімат нашої планети. Якщо взяти до уваги, що кількість метану, яка продукується жуйними тваринами, дуже велика (близько 80 млн тонн на рік), то дослідження можливостей скерованого впливу на його продукцію в рубці є актуальними та мають і економічне, і екологічне значення.

Досліди проводили *in vitro*. Рідину рубця бичків інкубували в анаеробних умовах протягом 24 год при температурі 38 °С в культуральному середовищі без і з додаванням целюлози, крохмалю або глюкози. Перед інкубацією і після

неї в інкубаторних посудинах визначали вміст метану, а також бактеріальної маси, летких жирних кислот і, окремо, ацетату, пропіонату та бутирату.

Показано, що під час інкубації в рубцевій рідині зростає кількість бактеріальної маси, а в газовій фазі акумулюється метан. Збільшується також кількість летких жирних кислот, але відношення між ними не змінюється.

Целюлоза інтенсифікує метаногенез і посилює використання водню для редукції CO<sub>2</sub>. Спостерігається також відносно збільшення вмісту оцтової і масляної кислот. Разом із тим, глюкоза і крохмаль пригнічують їх продукцію. Таким чином, целюлоза в рубці жуйних тварин є в основному джерелом летких жирних кислот і метану, тоді як крохмаль і глюкоза відіграють важливу роль в енергетичних процесах бактеріальних клітин.



**ЕФЕКТИВНІСТЬ ГЛУТАРГІНУ ПРИ ІШЕМІЧНО-РЕПЕРФУЗІЙНОМУ ПОШКОДЖЕННІ ПЕЧІНКИ**

**К.А. Посохова, Л.Й. Плосканич, О.М. Олещук**  
ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

В експериментах на 54 білих щурах-самцях досліджено ефективність глутаргіну при ішемічно-реперфузійному пошкодженні печінки (ІРП), яке викликали шляхом накладання лігатури на судинну ніжку лівої і середньої часток печінки на 30 хв. Час реперфузії становив 60 хв та 1 добу. Контролем були несправжньооперовані тварини. Перед моделюванням ураження протягом 7 діб щоденно вводили глутаргін (45 мг/кг маси внутрішньоочеревинно). У крові (К) та гомогенатах печінки (П) визначали вміст гідроперекисів ліпідів (ГПЛ), ТБК-активних продуктів (ТБК), активність каталази (КТ), супероксиддисмутази (СОД), рівень відновленого глутатіону (G-SH), нітрит-аніона ( $\text{NO}_2^-$ ). Встановлено, що на всіх стадіях ІРП у П активуються процеси ПОЛ та знижується активність антиоксидантної системи (АОС). У П вміст ТБК та ГПЛ підвищується, відповідно, на 61 і 36 % – через 60 хв, 47 і 28 % – через 24 год. У К вміст ТБК також зростає на 37 % – через 60 хв реперфузії, на 30 % – через 24 год. Активність

СОД, КТ і вміст G-SH у П знижуються через 60 хв на 108, 44, 222 %; через 24 год – на 98, 12 і 85 % відповідно. Одночасно спостерігається зниження вмісту  $\text{NO}_2^-$  у К та П на 37 і 61 % у 1-й та на 18 і 25 % у 2-й термін експерименту. Профілактичне введення глутаргіну при ІРП призводить до вірогідного зменшення у П рівня ТБК та ГПЛ через 60 хв реперфузії, відповідно, на 70 і 20 %, через 24 год – на 27 і 31 %. Одночасно у П зростають активність СОД, КТ і вміст G-SH на 47, 26 і 64 % через 60 хв, на 46, 10 і 48 % через 24 год. Це супроводжується відновленням рівня  $\text{NO}_2^-$  у К і у П на всіх стадіях ІРП печінки.

Таким чином, глутаргін проявляє лікувально-профілактичну дію при ішемічно-реперфузійному пошкодженні печінки, що супроводжується пригніченням процесів ліпопероксидації, відновленням показників антиоксидантної системи в ураженому органі та зростанням вмісту нітрит-аніона в печінці й крові.

## ВПЛИВ ГІСТИДИНАТУ МІДІ НА МЕТАБОЛІЗМ ОКСИДУ АЗОТУ В НИРКАХ ПРИ ОТРУЄННІ БЛІДОЮ ПОГАНКОЮ

О.М. Сопель

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Загальновізнано, що в ендотеліальних, мезангіальних і епітеліальних клітинах нирок відбувається постійний синтез NO, який регулює реальний кровотік, ниркову екскреторну функцію та електролітний обмін.

Мета роботи – з'ясувати вплив гістидинату міді на зміни вмісту в крові й нирках оксиду азоту при аманіта-фалоїдиновій інтоксикації.

Досліди проведено на білих нелінійних щурах-самцях масою 0,160-0,200 кг. Отруєння тварин здійснювали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення їм екстракту блідої поганки в дозі LD<sub>50</sub>. Гістидинат міді вводили внутрішньошлунково в дозі 0,94 мг/кг (біотична доза міді в крові). Вміст NO в гомогенаті нирок і сироватці крові оцінювали за кількістю його стабільного метаболіту нітрит-аніона (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>). Дослідження проводили на 6, 24, 72 год після отруєння тварин.

У ході попередніх наших досліджень було встановлено, що під дією отрути блідої поганки в сироватці крові щурів вміст нітрит-аніона збільшується, а в гомогенаті нирок він зни-

жується. Для корекції виявлених порушень ми використали металокомплекс – гістидинат міді.

Згідно з отриманими даними, під впливом гістидинату міді вміст NO<sub>2</sub><sup>-</sup> в сироватці крові отруєних щурів достовірно знизився порівняно з нелікованими тваринами. Так, через 6 год після введення щурам отрути блідої поганки під дією металокомплексу вміст нітрит-аніону в сироватці крові зменшився на 20,2 %, через 24 год – на 57,8 %, через 72 год – на 40,2 %. У гомогенаті нирок спостерігалась зворотна закономірність. У всі терміни досліджень вміст нітрит-аніона суттєво збільшувався у лікованих гістидинатом міді щурів порівняно з нелікованими, хоча норми так і не досягнув. Так через 6 год після отруєння рівень NO<sub>2</sub><sup>-</sup> в гомогенаті нирок тварин, яким вводили металокомплекс, підвищився в 1,63 раза порівняно з нелікованими щурами, через 24 год – в 1,7 раза, а на 72 год – у 2,3 раза.

Отже, гістидинат міді проявляє виражений регулювальний ефект в утворенні оксиду азоту в нирках тварин при аманіта-фалоїдиновій інтоксикації.

## ВПЛИВ ГЛУТАРГІНУ ТА ПІРАЦЕТАМУ НА ТОЛЕРАНТНІСТЬ ДО ФІЗИЧНОГО НАВАНТАЖЕННЯ ПРИ ГОСТРОМУ ОТРУЄННІ МОНООКСИДОМ ВУГЛЕЦЮ

**В.В. Ніколаєва**

*ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО*

Інтоксикація монооксидом вуглецю (СО) доволі часто зустрічається у побуті та на виробництві. З метою корекції метаболічних процесів при отруєннях широке застосування отримали препарати, які мають антиоксидантні та антигіпоксичні властивості.

У досліджах на білих щурах-самцях масою 170-200 г вивчали працездатність лабораторних тварин при гострому отруєнні монооксидом вуглецю за попереднього (окремого та комбінованого) введення глутаргіну та пірацетаму. Гостре отруєння моделювали при 15 хв експозиції чадного газу в затруйній камері в дозі 9 мг/м<sup>3</sup>. Пірацетам (400 мг/кг) та глутаргін (100 мг/кг) вводили внутрішньоочередово протягом 4 днів перед затруєнням. Визначення толерантності до фізичного навантаження проводили, використовуючи тест на тривалість плавання (С.И. Гончаров, С.Д. Кузьменко, 1991) через 1 та 24 год після затруєння.

Встановлено, що при гострому отруєнні СО тривалість плавання тварин знижується на 41 та 28 % відповідно до термінів дослідження. За попереднього введення пірацетаму даний показник зростає, відповідно, на 30 та 23 % порівняно з ураженням. Профілактичне введення глутаргіну призводить до збільшення тривалості плавання на 36 та 32 % відповідно до термінів експерименту. Комбіноване попереднє введення пірацетаму та глутаргіну супроводжується зростанням часу плавання на 47 та 35 %, порівняно з ураженням, з наближенням вказаного показника до контролю.

Таким чином, пірацетам та глутаргін при їх введенні перед гострим отруєнням монооксидом вуглецю підвищують толерантність тварин до фізичного навантаження (у тесті з плаванням). Ефективність комбінації пірацетаму та глутаргіну є достовірно більшою, ніж пірацетаму, але не глутаргіну.

## БІЛКОВИЙ І ЛІПІДНИЙ СКЛАД КРОВІ КОРІВ ПРИ ЕНДОМЕТРИТАХ

**Б.М. Куртяк, В.Г. Янович**  
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН УААН, ЛЬВІВ

Ендометрити у корів є поширеною патологією, яка становить близько 60 % загальної кількості післяродових патологій, проте біохімічні аспекти їх патогенезу з'ясовано недостатньо. Тому метою нашої роботи було порівняльне дослідження загального вмісту білків і співвідношення окремих їх фракцій у сироватці крові та загального вмісту ліпідів, їх жирнокислотного складу і співвідношення окремих їх класів у плазмі крові чотирьох клінічно здорових корів і чотирьох корів з катаральним ендометритом.

Встановлено, що при ендометриті у сироватці крові корів значно знижуються загальна концентрація білків і концентрація  $\gamma$ -глобулінів та підвищується концентрація  $\alpha$ - і  $\beta_2$ -глобулінів. Ці дані свідчать про порушення синтезу сироваткових білків у печінці й клітинах імунної системи корів при ендометриті.

У плазмі крові корів з ендометритом виявлено значно більшу концентрацію триацилгліцеролів і вільних жирних кислот ( $p < 0,001$ ) та меншу концентрацію етерифікованого холестеролу. Жирнокислотний склад загальних ліпідів плазми крові корів з ендометритом характеризується меншим вмістом поліненасичених (лінолевої, арахідонової) ( $p < 0,01$ ) і більшим вмістом мононенасичених (олеїнової, пальмітоолеїнової) ( $p < 0,01$ ) жирних кислот. Ці дані становлять інтерес у зв'язку з тим, що холестерол є попередником стероїдних статевих гормонів, які стимулюють функцію яєчників у корів після отелення, а арахідонова кислота – попередником простагландинів, що беруть участь у регуляції функції яєчників і плаценти.

Встановлено, що при ендометриті у сироватці крові корів значно знижуються загальна концентрація білків і концентрація  $\gamma$ -глобулінів та підвищується концентрація  $\alpha$ - і  $\beta_2$ -глобулінів. Ці дані свідчать про порушення синтезу сироваткових білків у печінці й клітинах імунної системи корів при ендометриті.

## РІВЕНЬ ПРОСТАТОСПЕЦИФІЧНОГО АНТИГЕНУ І МОРФОЛОГІЧНА СТРУКТУРА ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ

**В.В. Россіхин<sup>1</sup>, М.Г. Яковенко<sup>2</sup>, Д.О. Єфімов<sup>2</sup>**  
ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ<sup>1</sup>,  
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В.Н. КАРАЗІНА<sup>2</sup>

Упровадження в клінічну практику визначення концентрації простато-специфічного антигену (ПСА) у сироватці крові порушило питання про співвідношення між його кількістю і морфологічною картиною передміхурової залози (ПЗ). У зв'язку з викладеним, досліджено морфологію ПЗ у пацієнтів з підвищеною концентрацією ПСА.

У 16 чоловіків, у яких концентрація загального ПСА перевищувала норму, було проведено біопсію ПЗ. Усіх пацієнтів обстежили клінічно та урологічно, а спеціальне обстеження включало анкетування за Міжнародною системою I-PSS і якості життя (QoL), пальцьове ректальне дослідження, трансабдомінальну та трансуретральну сонографію ПЗ із визначенням її об'єму, вузла і залишкової сечі. Об'єм ПЗ і вузла в ній визначали за загальноприйнятою формулою, концентрацію загального ПСА в сироватці крові – за допомогою стандартних наборів. Пацієнтам проводили 4-точкову тонкоігольову біопсію ПЗ під контролем УЗД. Розраховували простатичну (PSA D нг/

мл/см<sup>3</sup>) і нодулярну щільність ПСА (PSA Nd, нг/мл/см<sup>3</sup>), а також співвідношення об'єму вузла (V nod) до об'єму ПЗ (V pst) (%). Отримані дані обробляли методом варіаційної статистики з обчисленням критерію t-Стьюдента.

Із 16 пацієнтів, відібраних для заглибленої диференційної діагностики об'ємних утворів ПЗ, у одного (6 %) було виявлено темноклітинну аденокарциному. Вік хворого – 53 роки, концентрація ПСА – 8,4 нг/мл, V pst – 29,8 см<sup>3</sup>, V nod – 9,7 см<sup>3</sup>, PSA D – 0,3 нг/мл/см<sup>3</sup>, PSA Nd – 0,88 нг/мл/см<sup>3</sup>, V nod/V pst – 33,4 %. В інших 15 пацієнтів (вік – 48-72 роки) було морфологічно підтверджено ДГПЗ при коливаннях концентрації ПСА від 4,5 до 27,6 нг/мл.

Незважаючи на підвищену середньостатистичну концентрацію сироваткового ПСА, середня щільність його свідчила про доброякісний процес у ПЗ. При цьому об'єм вузла в середньому займав приблизно половину об'єму всієї залози.

Таким чином, отримані результати вказують на органоспецифічність, а не канцероспецифічність ПСА.



## ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК МІЖ ГУБЧАСТОПОДІБНОЮ ЕНЦЕФАЛОПАТІЄЮ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ТА НОВИМ ВАРІАНТОМ ХВОРОБИ КРЕЙТЦФЕЛЬДТА-ЯКОБА У ЛЮДЕЙ

**В.В. Влізло, П.І. Вербицький**  
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН УААН, ЛЬВІВ

У березні 1996 року Міністерство охорони здоров'я Великої Британії повідомило про появу нового варіанта хвороби Крейтцфельдта-Якоба (нвКЯХ) у людей. Її спричинило зараження людей від великої рогатої худоби, яка латентно хворіла на губчастоподібну енцефалопатію (ГЕВРХ). Таким чином, лише після 10-ти років від початку виникнення епізоотії ГЕВРХ у Великій Британії було доведено ймовірність зараження людей. Інфікування могло настати при споживанні уражених інфекційним пріоном (PrP<sup>sc</sup>) м'ясних продуктів. З 1985 по 1995 рр. у Великій Британії забили на м'ясо 25 мільйонів великої рогатої худоби, з них близько 700 тисяч могли бути хворими у стані інкубаційного періоду. В 1989 р. людям заборонили використовувати в їжу мозок та інші ризиковані продукти. Зараз важко сказати, скільки людей може бути інфіковано, однак на початок осені 2004 року у Великій Британії померло від нвКЯХ понад 150 хворих. Поодинокі випадки захворювання зареєстровано у Франції, Ірландії, Швейцарії, які є несприятливими щодо ГЕВРХ. Отже, можна зробити висновок, що на сьогодні не слід говорити про епідемію нвКЯХ.

Новий варіант хвороби Крейтцфельдта-Якоба відрізняється від інших форм даного за-

хворювання (спорадична КЯХ, родинна КЯХ) за клінічними ознаками, місцем та особливостями ураження мозку. В більшості випадків нвКЯХ реєструється у молодих людей (25-40 років), а сКЯХ та рКЯХ – у старших (понад 65 років). У ході епізоотологічних та епідеміологічних досліджень встановлено взаємозв'язок між ГЕВРХ та новим варіантом хвороби Крейтцфельдта-Якоба. При зараженні мишей та резус-мавп патологічними матеріалами з мозку людей, які загинули від нвКЯХ, та мозку великої рогатої худоби, що хворіла на губчастоподібну енцефалопатію, у лабораторних тварин було виявлено однакові симптоми та патологічні зміни у центральній нервовій системі (Lasmizas C.I. et al., 1996). Під час дослідження пріон-протеїну за молекулярною масою, гліколізуванням і біохімічними властивостями встановлено (Bruce M.E. et al., 1997) схожість між PrP<sup>sc</sup>, що спричиняв нвКЯХ та ГЕВРХ. Водночас результати дослідів на мишах показали відмінність між штамми, які викликали нвКЯХ та сКЯХ.

Таким чином, на основі епізоотологічних та епідеміологічних даних, лабораторних досліджень штамів інфекційного пріона доведено, що причиною появи нового варіанта хвороби Крейтцфельдта-Якоба є інфікування людей збудником ГЕВРХ.

**ВПЛИВ КВЕРЦЕТИНУ НА РІВЕНЬ ЦИКЛІЧНИХ НУКЛЕОТИДІВ  
У ЩУРІВ ЗА УМОВ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОЇ ГЕПАТОПАТІЇ****І.Ю. Висоцький**  
СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Відомо, що підвищення рівня цАМФ при дії патогенних факторів відображає один із центральних адаптаційних механізмів клітини, зменшує гепатоклітинні ушкодження і відновлює цілісність печінки в експериментальних тварин. З цих позицій стало реальним застосування лікарських засобів для регуляції вмісту циклічних нуклеотидів при патології печінки.

Мета роботи – з'ясувати вплив кверцетину на рівень цАМФ і цГМФ в організмі експериментальних тварин після гострого токсичного ураження печінки леткими компонентами епоксидної смоли ЕД-20 (ЕС).

Досліди проведено на білих щурах-самцях лінії Вістар. Гостре токсичне ураження печінки викликали шляхом одноразового 4-годинного інгаляційного динамічного впливу леткими компонентами ЕС у концентрації, що становить  $1/3 LC_{50}$  (120-140 мг/м<sup>3</sup> за епіхлоргідрином). Кверцетин вводили внутрішньошлунково в дозі 350 мг/кг (ЕД<sub>50</sub>) за 3 год до початку інтоксикації і через 5 хв після її закінчення. Вміст цАМФ і цГМФ у печінці визначали радіоімунним методом.

Показано, що через 6 год після вилучення щурів із камери відбувається двократне достовірне збільшення вмісту цАМФ. У подальшому концентрація цього посередника

різко знижується і досягає на 24 год рівня інтактних тварин, а на 72 год стає меншою від нього у 3,5 раза. Вміст цГМФ у гепатоцитах через 6 і 24 год, на відміну від цАМФ, зменшується на 73 і 54 % відповідно, а через 72 год – зростає на 97 %. Використання біофлавоноїду кверцетину супроводжується підвищенням концентрації цАМФ після 6, 24 і 72 год на 357, 87 і 15 % відповідно порівняно з інтактними тваринами і на 123, 94 і 305 % порівняно з щурами контрольної групи. Дія кверцетину також проявляється збільшенням рівня цГМФ у гепатоцитах: через 24 і 72 год – на 60 і 263 % відносно інтактних щурів та на 252 і 85 % відносно контрольної групи тварин. На 6 год досліду даний показник був, відповідно до названих груп, нижчим на 10 і вищим на 120 %.

Таким чином, вплив на організм летких компонентів ЕС призводить до фазових змін у системі цАМФ/цГМФ. У початковий період після отруєння вміст цАМФ у печінці зростає, а на більш пізніх етапах – знижується і розвивається відносно переважання цГМФ-залежних процесів. Під впливом кверцетину відбувається пролонговане збільшення вмісту цАМФ у печінці, а також підвищення концентрації цГМФ порівняно як з контрольною, так і з інтактною групами тварин.

## БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ РІЗНОЇ ЛОКАЛІЗАЦІЇ ПРИ СТРЕСІ В ЧАСОВОМУ АСПЕКТІ

**М.В. Князева, О.І. Бабаєва**

*ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В.Н. КАРАЗИНА  
ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ  
ГРОМАДСЬКА ОРГАНІЗАЦІЯ "НОВЕ МИСЛЕННЯ У МЕДИЦИНІ"*

Актуальність даної експериментальної роботи пов'язана з проблемою пошуку біохімічних критеріїв розриву аневризми аорти (АА) у хворих із загрозою розриву. Слід відмітити, що такі критерії в біологічних рідинах хворих з АА нами було виявлено серед показників сполучної тканини (СТ) і фібринолізу та описано в попередніх роботах (2000-2004). У зв'язку з тим, що СТ аорти (А) складає тільки приблизно 5 % всієї СТ організму, виникла необхідність довести, що джерелом метаболітів, запропонованих для діагностичного комплексу, є не кістки, а саме А. Було проведено експеримент на білих щурах із вивчення впливу 30-добової гіпокінезії та реадaptaції після неї на тканини різних органів. Матеріалом для вивчення були А, міокард, фрагменти кісткової тканини, а також сироватка крові 110 безпородних щурів-самців 3- і 12-місячного віку. Гіпокінезію проводили в спеціально сконструйованих клітках (М.В. Князева, 1987). У тканинах визначали: вміст оксипроліну – за методом H.Z. Stegmann, проліну – за методом F.N. Vostor, тиро-

зину – за методом Л.І. Слуцького, гексозамінів – за методом N.F. Voas, а також гексуронових кислот – за методом D.T. Galambos. Встановлено, що СТ і структури різної локалізації характеризуються в часовому аспекті фазовими змінами метаболізму при стресі, яким є 30-добова гіпокінезія і реадaptaція після неї. Ці фази реакції (СТ), що входить у структуру А, міокарда і кісток, у відповідь на дію одного і того ж фактора найчастіше не збігаються за часом, у зв'язку з чим біохімічні компоненти (СТ) різної локалізації можуть надходити в кров і сечу неодноразово (наприклад, СТ аорти і кісток). Тканина А при цьому реагує на стресовий вплив раніше, ніж тканини інших органів, що супроводжується змінами рівня метаболітів СТ у сироватці крові й сечі. Таким чином, проведений експеримент дозволяє пояснити високий ступінь кореляції змін вмісту метаболітів органічного матриксу СТ у крові хворих із діагнозом АА із загрозою розриву і підтверджує, що джерелом метаболітів (СТ) у крові в цьому випадку є А, а не органи кісткової системи.

## ВПЛИВ ОРГАНІЧНИХ БЛОКАТОРІВ ТРАНСПОРТУ КАТІОНІВ КАЛЬЦІЮ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ СКОРОЧЕННЯ КОЛАГЕНОВОГО ГЕЛЮ ЕМБРІОНАЛЬНИМИ ФІБРОБЛАСТАМИ ЛІНІЇ NIH-3T3 ПРИ ДІЇ ТРАНСФОРМУЮЧОГО ФАКТОРА РОСТУ $\beta$ -ТИПУ.

О.С. Корчинська

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

Здатність трансформуючого фактора росту  $\beta$ -типу (ТФР- $\beta$ ) стимулювати проліферацію клітин та інтенсифікувати їх біосинтетичні процеси призвела до думки про його можливу роль у регуляції регенерації та ймовірність використання для стимуляції цих процесів. Показано, що ТФР- $\beta$  є хемоатрактантом для фібробластів та лейкоцитів. У ході перебігу важливої стадії процесу загоєння ран – контракції країв рани фібробластами – значне місце належить здатності ТФР- $\beta$  та фактора росту фібробластів стимулювати цей процес. Зручною біологічною моделлю для вивчення *in vitro* особливостей перебігу процесу контракції країв рани є зменшення об'єму тривимірного колагенового гелю з внесеними у нього фібробластами. Відомо, що регуляторний вплив факторів росту на клітини-мішені опосередковується багатьма ефекторними системами клітини, зокрема процесами фосфорилування деяких мембранних та внутрішньоклітинних білків, змінами в обміні фосфоінозитидів та іншими процесами. Особливу увагу привертає до себе роль такого універсального вторинного месенджера, як катіони кальцію.

З метою вивчення ролі транспорту катіонів кальцію у клітини в опосередкуванні стимулювальної дії ТФР- $\beta$  (у концентрації 10 нг/мл) на концентрацію колагенового гелю фібробластами ми досліджували вплив деяких органічних блокаторів, які здатні конкурувати з кальцієм за його канали на плазматичних мембранах клітин.

Результати використання специфічних антагоністів кальцієвих каналів L-типу – похідної фенілалкіламіну верапамілу (в концентрації  $1 \cdot 10^{-5}$  М) і похідних дигідропіридину нітредипіну та ніфедипіну (в концентрації  $1 \cdot 10^{-7}$  М) – свідчать про те, що їх присутність у культуральному середовищі з 1 % сироватки крові знижує інтенсивність контракції, відповідно, в 3,95 ((3,2 $\pm$ 1,3) %), 4,1 ((3 $\pm$ 1,2) %) та 4,05 ((3,1 $\pm$ 1,3) %) раза. Згадані блокатори виявилися також здатними ефективно пригнічувати стимулювальний вплив ТФР- $\beta$  на зменшення об'єму колагенового гелю. Зокрема, в присутності верапамілу зниження стимулювального впливу ТФР- $\beta$  становило 3,5 раза ((12 $\pm$ 1,5) %) на 4-5 добу і рівень стягування гелю не перевищував контрольний. Очевидно, нітредипін та ніфедипін є більш ефективними блокаторами стимулювальної дії ТФР- $\beta$ , ніж верапаміл, оскільки подібне зниження такого впливу фактора росту досягалось при концентрації антагоніста  $1 \cdot 10^{-7}$  М.

Отримані результати свідчать про те, що значна роль у забезпеченні стимулювальної дії ТФР- $\beta$  на зменшення об'єму колагенового гелю фібробластами належить пасивному транспорту катіонів кальцію в клітини-мішені. На підставі даних літератури та проведеного нами інгібіторного аналізу можна висловити припущення про те, що такий вплив перш за все відбувається завдяки дигідропіридиночутливим  $\text{Ca}^{2+}$ -каналам.

**АКТИВАЦІЯ КАСПАЗИ-3 ТА ІНДУКЦІЯ АПОПТОЗУ КЛІТИН МТ-4 Т-ЛІМФОБЛАСТНОЇ ЛЕЙКЕМІЇ ЛЮДИНИ ПІД ВПЛИВОМ РЕСВЕРАТРОЛУ****М.П. Завелевич, О.Л. Сєвко, О.О. Фільченков***ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ, ОНКОЛОГІЇ І РАДІОБІОЛОГІЇ  
ІМ. Р.Є. КАВЕЦЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ, КИЇВ*

Ресвератрол, нефлавоноїдний поліфенол рослинного походження, є природним антиоксидантом. Останнім часом було показано, що він гальмує проліферацію лейкемічних клітин різного генезу, індуючи при цьому апоптоз, а також викликає диференціювання лейкемічних клітин. Однак до сьогодні механізми такої дії даного препарату на лейкемічні клітини, зокрема механізми індукції та реалізації апоптозу, залишаються малодослідженими.

Мета дослідження полягала у вивченні впливу ресвератролу на проліферативну активність та індукцію апоптозу в перещеплюваній лінії МТ-4 Т-клітинної гострої лейкемії людини.

Дослідження проводили на клітинах лінії МТ-4, що походять з клітин гострої лімфобластної лейкемії людини. Ресвератрол розчиняли у спирті в концентрації 10 ммоль/л безпосередньо перед експериментом та вносили в культуру клітин в лог-фазі з цього спиртового концентрату. З метою порівняння як позитивний контроль застосовували інгібітор ДНК-топоізомерази II вепезид, який вносили в культуру МТ-4 на строк до 18 год у концентрації 10-40 мкмоль/л. Життєздатність клітин аналізували за допомогою їх забарвлення вітальним барвником трипановим синім. Апоптозні клітини виявляли мікроскопічно в пофарбованих цитопрепаратах та методом проточної цитометрії клітин, забарвлених йодистим пропідієм. Аналіз активації каспази-3 в процесі апоптозу проводили методом проточної цитометрії клітин, оброблених FITC-кон'югованими моноклональними антитілами проти активної форми каспази-3.

Культивування клітин МТ-4 в присутності ресвератролу в концентрації 20 та 50 мкмоль/л викликало уповільнення проліферації клітин, які помітно відставали у рості вже на 2-гу добу. Разом із тим, препарат у досліджуваних дозах не призводив до помітної загибелі клітин. Таким чином, ефект ресвератролу мав переважно цитостатичний характер, хоча на 2-гу та 3-тю добу культивування в зразках з'являлись клітини зміненої морфології з ознаками апоптозу, що було підтверджено ідентифікацією гіподиплоїдних клітин методом проточної цитометрії. На 1-шу добу після початку інкубації з ресвератролом у клітинах МТ-4 спостерігалася статистично достовірна активація каспази-3 (близько 15 % порівняно з 3-5 % в інтактних клітинах). Такий рівень активації каспази-3 відзначався нами в клітинах МТ-4 у ранні терміни після початку інкубації з вепезидом (до 20 % протягом 1-4 год) ще до явного прояву морфологічних ознак апоптозу.

Ресвератрол спричиняє уповільнення проліферації лейкемічних клітин, що супроводжується активацією в них каспази-3, та індукцію апоптозу, хоча ці явища не набувають масового характеру, на відміну від такого при дії типових цитотоксичних препаратів. Безсумнівно, ресвератрол як малотоксичний препарат заслуговує подальшого вивчення. Зокрема, чималий інтерес становить питання про можливості застосування ресвератролу, який, імовірно, здатен підсилювати активацію каспази-3 як модулятора апоптозу за комбінованої дії різних протипухлинних препаратів.



## АНТИОКСИДАНТНІ ТА МЕМБРАНОТРОПНІ ВЛАСТИВОСТІ N-ВМІСНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІВ У РЕАКЦІЯХ ПЕРЕКИСНОЇ МОДИФІКАЦІЇ ЛІПІДІВ І БІЛКІВ

О.В. Афанасенко, Ю.І. Губський

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

Лікарські засоби синтетичного та природного походження, зокрема вітаміни та рослинні комплекси, для яких характерний постульований антиоксидантний механізм дії, тобто здатність виступати інгібіторами процесів вільнорадикального окиснення біомолекул, посіли в наш час важливе місце в експериментальній та клінічній медицині. Враховуючи різноманітність позитивних біологічних ефектів антиоксидантів, їх подальший пошук та вивчення залишаються вкрай актуальними завданнями сучасної біохімії.

У нашій роботі вивчали антиоксидантні властивості N-вмісних гетероциклів, похідних піридину, піримідину, ізоалоксазину та фенілалкіламінів методом гасіння  $Fe^{2+}$ -ініційованої біохемілюмінесценції в системі ліпопротеїнів яєчного жовтка, а також антирадикальні властивості даних ФАС при взаємодії з вільним радикалом ДФПГ. Показано, що найвищу антиоксидантну активність за тестом гасіння  $Fe^{2+}$ -ініційованої біохемілюмінесценції має також 1,4-дигідропіридин – ніфедипін. Близькі до нього значення

антиоксидантної активності має піридоксин. Розміщення досліджуваних ФАС за антиоксидантною активністю має такий вигляд: рибофлавін < тіаміну хлорид < нікотинава кислота < піридоксин  $\approx$  ніфедипін.

Розглядається перспективність дослідження молекулярної структури N-вмісних гетероциклів та їх квантово-механічних характеристик для первинного скринінгу та прогнозування лікарських засобів із антиоксидантними властивостями.

Методами молекулярної механіки було охарактеризовано особливості молекулярної структури – розрахункові значення загальної енергії напруження та її складових для молекул солей амідів та ефірів піридинкарбонових кислот. Нами проведені кореляційні дослідження: структурні параметри молекул – антиоксидантні властивості. Виявлено спільні структурні параметри – енергії напруження, величини яких корелюють з досліджуваними антиокиснюваною та антирадикальною активностями.

**АКТИВНІСТЬ СУКЦИНАТДЕГІДРОГЕНАЗИ МОЗКУ ЩУРІВ  
ЗА КОРОТКОЇ ЕКСПОЗИЦІЇ ДИХЛОРЕТАНУ: ЕФЕКТ НІКОТИНАМІДУ**

**Л.В. Яніцька, Ю.І. Губський, Т.М. Кучмеровська<sup>1</sup>**  
*НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ*  
*ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДІНА НАНУ, КИЇВ<sup>1</sup>*

---

Проблема профілактики та лікування ряду захворювань, які виникають у зв'язку із шкідливими екологічними умовами, залишається однією з найбільш актуальних у медицині. У відповідь на несприятливі умови в організмі людини та тварин відбуваються адаптаційно-регуляторні зміни на всіх рівнях обміну речовин, зокрема у системі окиснення сукцинату в мітохондріях мозку. Саме сукцинат за накопиченням енергії займає особливе місце в регуляції енергетики клітин, що визначає його роль у підтриманні стійкості організму до дії ушкоджувальних факторів.

Метою даної роботи було дослідження однієї з ланок енергетичного обміну в мітохондріях мозку за гострої інтоксикації дихлоретаном (ДХЕ) та з'ясування можливості її подальшої корекції нікотинамідом (НАм), який проявляє захисний ефект при ряді захворювань нервової системи. Моделювання інтоксикації ДХЕ протягом однієї та двох діб проводили на щурах-самцях лінії Вістар: 1-ша група – контроль, тваринам 2-ї та 3-ї груп вводили ДХЕ, тваринам 3-ї групи вводили НАм (200 мг/кг

маси тіла) протягом 1-ї або 2-х діб. Активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) визначали у щойно виділених мітохондріях під-дослідних тварин. Ферментативну активність виражали в мікромолях окисненого субстрату на 1 мг білка мітохондрій за 1 хв.

Активність СДГ значно знижувалась при інтоксикації ДХЕ порівняно з контролем. Після 2-добової дії ДХЕ спостерігалось більш виражене зменшення активності СДГ порівняно з інтоксикацією протягом доби. Одержані результати свідчать про суттєві зміни в енергетичному обміні та у ферментній системі ланцюга транспорту електронів мітохондрій, що відбуваються при інтоксикації. Показано корегувальний вплив НАм на активність СДГ у мозку щурів, який є більш вираженим після 2-добової інтоксикації. Корекція функціонування мітохондрій мозку за дії ДХЕ, найімовірніше, здійснюється через енергопостачальну функцію НАм, а також через його як пряму, так і непряму антиоксидантну дію. Таким чином, НАм може бути корегувальним агентом за умов гострої інтоксикації галогенопохідними.

---

© Л.В. Яніцька, Ю.І. Губський – д.мед.н., проф., чл.-кор.  
АМН України, Т.М. Кучмеровська, 2004.

## ЗМІНИ ОКСИГЕНАЗНИХ РЕАКЦІЙ ТА ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ЛІПІДІВ У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ХІМІЧНОГО УРАЖЕННЯ

**О.В. Задоріна, Т.С. Брюзгіна, А.Б. Гладчук, Т.П. Прадій, О.А. Васильченко**  
*НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ*

Хімічне ураження клітин печінки за умов надходження в організм токсичних сполук знижує їх детоксикаційну функцію і призводить до порушення обміну речовин в організмі.

Метою роботи було вивчення оксигеназних реакцій та жирнокислотного складу ліпідів мембранних структур печінки при надходженні в організм нітритів та нітратів, а також інтоксикації тварин тетрахлорметаном, 1,2-дихлоретаном та іонами кадмію.

Хімічне ураження клітин зумовлювали шляхом введення щурам (на 1 кг маси тіла) 2 мл тетрахлорметану та 0,3 мл 1,2-дихлоретану; нітрит натрію вводили одноразово підшкірно в дозах 25, 50 та 100 мг і 5,10 та 15 мг – внутрішньовенно (гостра інтоксикація), а також 10 і 40 мг – підшкірно впродовж одного місяця (хронічна інтоксикація). Кадмієву інтоксикацію спричиняли, внутрішньом'язово вводючи хлорид кадмію протягом 10-ти днів.

За допомогою газорідинної хроматографії методом J. Folch досліджували жирнокислотний склад ліпідів, а також вивчали НАДФН- і аскорбатозалежне та неініційоване перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) – за вмістом ма-

лонового діальдегіду – в мітохондріальній та мікросомній фракціях печінки. У мікросомах печінки вивчали N-деметилазну та п-гідроксилазну активність.

Одержані результати досліджень дозволили встановити, що за умов інтоксикації тварин тетрахлорметаном, 1,2-дихлоретаном та хлористим кадмієм відбувається активація ПОЛ у мітохондріальній та мікросомній фракціях печінки. За введення  $\text{NaNO}_2$  в малих дозах спостерігається активація НАДФН- та аскорбатозалежної ліпопероксидації; нітрит натрію у великих дозах знижує ліпопероксидацію, причому аскорбатозалежна ліпопероксидація інгібується значною мірою. Виявлено порушення в жирнокислотному складі ліпідів за умов хімічного ураження печінки. При введенні тетрахлорметану, нітриту натрію виникають порушення реакцій мікросомного окиснення в печінці – інгібування N-деметилазної та п-гідроксилазної активності.

Корекцію порушених процесів проводили вітамінами-антиоксидантами, синтетичним антиоксидантом іонолом, антиоксидантами рослинного походження та унітіолом.

## ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ ПИРІЮ ПОВЗУЧОГО НА БІЛКОВИЙ ОБМІН

**С.М. Марчишин**

*ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО*

У складних механізмах, які визначають життєдіяльність живого організму, особливо важливу роль відіграє білковий обмін, порушення якого спостерігається при різних патологічних станах. Тому для організму, що перебуває в стані білкового дефіциту, важливо призупинити катаболічні й підсилити анаболічні процеси.

Існує декілька шляхів корекції білкового обміну, одним з яких є медикаментозне стимулювання білково-синтетичних процесів за допомогою анаболічних препаратів. Серед засобів, які мають здатність стимулювати білосинтетичні процеси, – фітопрепарати, біологічно активні речовини яких проявляють анаболічну дію. У цьому відношенні значний інтерес викликає пирій повзучий, який здавна використовувався у народній медицині як засіб, що впливає на обмінні процеси в організмі.

Дослідження проводили на щурах масою 110-130 г. Водний екстракт пирію повзучого

вводили перорально в дозах 50, 100, 200, 300, 400, 500 мг/кг протягом 18 днів. Тварини контрольної групи одержували воду у відповідному об'ємі.

Після закінчення експерименту щурів декапітували, забирали органи і визначали в них вміст загального білка за методом Лоурі в модифікації Міллера.

Результати експерименту показали, що екстракт кореневищ і коренів пирію повзучого в даних дозах сприяє збільшенню вмісту білка в усіх досліджуваних органах. Найвищий вміст білка спостерігався при введенні екстракту пирію повзучого в дозі 100 мг/кг. При цьому вміст загального білка збільшився у печінці на 63,8 %, м'язах – на 42,6 %, серці – на 58 %, нирках – на 50,7 %.

Одержані результати свідчать про те, що екстракт кореневищ і коренів пирію повзучого проявляє анаболічну дію при всіх дозах, що вивчалися; найефективнішою є доза 100 мг/кг.

## МЕТОДИ ОЦІНКИ ПОРУШЕНЬ ОКИСНЮВАЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗУ ПРИ ДІЇ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

Л.М. Овсяннікова, С.М. Альохіна, О.В. Носач  
НАУКОВИЙ ЦЕНТР РАДІАЦІЙНОЇ МЕДИЦИНИ, КИЇВ

Як відомо, окиснювальний гомеостаз є важливим ланцюгом у підтриманні гомеостазу взагалі. Завдяки високоефективній багаторівневій ієрархічній антиоксидантній системі підтримується стабільний рівень продуктів перекисного окиснення та прооксидантно-антиоксидантної рівноваги. Разом із тим, проблема діагностики, профілактики та корекції порушень окиснювального гомеостазу залишається актуальною, враховуючи дію багатьох ушкоджувальних факторів, особливо іонізуючого випромінювання.

Великий досвід роботи на базі клініки Наукового центру радіаційної медицини АМН України дозволив нам запропонувати набір біохімічних методів для об'єктивної оцінки антиоксидантного статусу пацієнтів з урахуванням можливих варіантів, зумовлених як генетичною детермінантою, так і захворюваннями.

При обстеженні пацієнтів як скринінгові тести пропонується визначення активності супероксиддисмутази та каталази в еритроцитах, вмісту тілових груп (SH-груп) у плазмі крові,

базального та ферумстимульованого рівня продуктів у ліпопероксидації (ТБК-активних продуктів).

Розширений набір показників включає визначення вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів (дієнових та оксидієнових кон'югат, ТБК-активних продуктів, основ Шиффа); вмісту церулоплазміну в сироватці крові; активності глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази, а також вмісту глутатіону відновленого. При виявленні змін у показниках можна визначити тип порушення окиснювального гомеостазу: дисфункції антиоксидантної системи з парціальною гіперліпопероксидемією; недостатність антиоксидантного захисту з накопиченням продуктів окисної модифікації білків та ліпідів.

Отримана таким чином інформація дозволить визначити тип порушення окиснювального гомеостазу, а також оптимальний підбір антиоксидантних препаратів для профілактики та корекції виявлених порушень.



## ВИВЧЕННЯ ВМІСТУ БІОФЛАВОНОЇДІВ У ДЕЯКИХ ВИДАХ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН

І.З. Кернична, О.В. Цибульська, П.Г. Лихацький

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Серед великої кількості лікарських препаратів проблема використання вітамінів рослинного походження залишається актуальною.

Біофлавоноїдами (рутином, кверцетином, цитрином) організм людини забезпечується в основному за рахунок рослинної їжі. У тканинах вітамін Р (рутин) може використовуватися на побудову біологічно активних сполук і через них впливати на обмін речовин. Припускають можливість утворення з біофлавоноїдів убіхінону, якому належить важлива роль в окисно-відновних процесах у мітохондріях. Доведено, що Р-вітамінні речовини функціонально пов'язані з аскорбіновою кислотою. Обидва вітаміни створюють єдину окисно-відновну систему, в якій кожен із них доповнює дію іншого. Вітамін Р захищає від окиснення і саму аскорбінову кислоту, чим створює умови для її тривалішої дії.

Природні джерела флавоноїдів – шкірка цитрусових, плоди деяких ягід тощо. Виникла потреба у вивченні кількісного вмісту цих сполук у рослинній сировині Тернопільської області видів: калини звичайної (*Viburnum oru-*

*lus* L.), хрону звичайного (*Armoracia rusticana* Gaertn., Mey. et Scher.), конюшини лучної (*Trifolium pratense* L.). Визначення вмісту вітаміну Р проводили за допомогою титрування калій перманганатом (метод Левенталя з використанням індигокарміну).

У хімічному відношенні плоди калини достатньо вивчено. З літературних джерел відомо, що вони містять до 900 мг% вітаміну Р. Об'єктом наших досліджень було листя вищезгаданих видів, але в літературі не згадується, скільки в ньому міститься даного вітаміну.

У ході експерименту встановлено найвищу кількість біофлавоноїдів у листках калини звичайної, дещо нижчий вміст зафіксовано у листках хрону звичайного і конюшини лучної.

Отримані нами дані щодо вивчення вмісту вітаміну Р у різних органах лікарських рослин наводять на думку про можливість подальшого вивчення вищевказаної лікарської сировини з метою її використання для приготування різних субстанцій, які можна було б застосовувати як судинозміцнюючий засіб, а в комплексі з вітаміном С – як антиоксидантний.

## **ВПЛИВ ВІТАМІННО-МІКРОЕЛЕМЕНТНОГО ПРЕПАРАТУ НА РІВЕНЬ ГОМОЦИСТЕЇНУ В ПЛАЗМІ КРОВІ ТА ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В ОЦІ, ВИКЛИКАНІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЮ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЄЮ**

**Р.В. Харковенко, М.А. Артемчук, К.П. Постовітенко,  
М.Б. Луцюк, Й.Р. Салдан, О.В. Сергієнко**

*ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА*

---

Є дані про негативний вплив гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ) на орган зору. Наприклад, при уродженій та набутій ГГЦ спостерігаються ектопія кришталіків, дегенеративні зміни в ціліарному тілі та глаукома. Тому пошук раціонального підходу до терапії очної патології, викликаній ГГЦ, є актуальним напрямком офтальмології. Мета роботи – вивчення біохімічних показників та морфологічних змін в оці при експериментальній ГГЦ і лікувальній дії вітамінів В<sub>6</sub>, В<sub>9</sub>, В<sub>12</sub> та мікроелементів у складі вітамінно-мікроелементного комплексу (ВМК). Досліди виконано на 27 білих щурах лінії Вістар масою близько 100 г, яких утримували на стандартній крохмально-казеїновій дієті. Було застосовано гіповітамінозно-метіонінову модель ГГЦ, що забезпечує, як показано в попередніх дослідженнях, більш як десятикратне підвищення

рівня гомоцистеїну (ГЦ) в плазмі крові. Тварин з ГГЦ лікували шляхом перорального введення їм ВМК протягом 10 або 20 діб. При ГГЦ у щурів гістологічно виявлено дезорганізацію всіх шарів сітківки та зміни артеріол і венул, які полягали у набряку судинної стінки, десквамації ендотеліальних клітин та мікротромбоутворенні. Після лікування рівень ГЦ у тварин нормалізувався. На 10 добу ознаки ураження судин – тромбоутворення, десквамація епітелію – були відсутні, однак залишилася незначна дезорганізація шарів сітчастої оболонки. Лікування щурів з ГГЦ запропонованим препаратом (ВМК) на 20 добу призвело до нормалізації морфологічної картини сітчастої оболонки ока.

Зроблено висновок про доцільність подальших доклінічних випробовувань препарату.

**СТАН ЗАХИСНИХ СИСТЕМ ОРГАНІЗМУ ЗА УМОВ ПОЄДНАНОЇ ДІЇ  
СОЛЕЙ КАДМІЮ І СВИНЦЮ ТА НІТРИТУ НАТРІЮ****Л.Л. Головка**

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

У сучасних умовах, у зв'язку з прогресуванням техногенного забруднення довкілля, важливим напрямком токсикології є вивчення особливостей та механізмів комбінованої дії найбільш поширених ксенобіотиків – факторів ризику багатьох екологічно залежних мультифакторних хвороб. Серед них важливе місце посідають нітриту та солі важких металів. Зважаючи на вищенаведене, ми поставили перед собою мету дослідити вплив комбінації субтоксичних доз нітритів, солей кадмію і свинцю на стан антиоксидантної, мікосомальної систем та плазматичних мембран гепатоцитів.

Досліди проводили на білих нелінійних щурах-самцях масою 170-200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Токсичне ураження викликали шляхом одноразового внутрішньошлункового введення тваринам водного розчину хлориду кадмію в дозі 6 мг/кг маси тіла та хлориду свинцю в дозі 6,5 мг/кг (1/15 LD<sub>50</sub>) і натрію нітриту в дозі 70 мг/кг (1/3 LD<sub>50</sub>). Для дослідження використовували цільну кров, плазму крові та печінку. Стан антиоксидантної системи оцінювали за активністю глутатіонпероксидази (ГПО) та глутатіонредуктази (ГР) [Кругликова Г.О., Штутман Ц.М., 1976], концентрацією відновленого глутатіону (Г-SH) за методом, запропонованим Ellman G.L. та церулоплазмину (ЦП) [Колб В.Г., Камышников В.С., 1982]. Оцінку стану мікосомальної системи проводили за активністю в мікосомах гепа-

тоцитів N-деметилування диметиланіліну (N-ДМА) та р-гідроксилування аніліну (р-ГА) [Карузина И.И., Арчаков А.И., 1977]. Визначали також показники ендogenous інтоксикації – еритроцитарний індекс інтоксикації (EII) за методом [А.А. Тогайбаев и др., 1988] та вміст молекул середньої маси у плазмі крові [Оськина В.В., Чекалина К.И., Габриэлян Н.И., 1987].

Проведені нами дослідження показали, що поєднане застосування солей важких металів та нітриту натрію спричиняло зниження активності антиоксидантних ферментів: через 24 год від моменту отруєння ГПО знизилась до 35,5 %, ГР – до 46,6 %, вміст ЦП зменшився до 57,8 % від норми. На 3-тю і 5-ту доби від моменту інтоксикації досліджувані показники залишались достовірно нижчими від норми. Спостерігалось також зменшення активності монооксигеназної системи ендоплазматичного ретикулула. N-деметилазна активність на 1-шу добу становила 65,1 %, р-гідроксилазна – 61 % від норми з подальшим їх зниженням до 5-ї доби, причому різниця між окисненням субстратів I та II типів нівелювалась. Нами зафіксовано і достовірно зростання еритроцитарного індексу інтоксикації та вмісту молекул середньої маси.

Отже, поєднане введення нітриту натрію та солей кадмію і свинцю має негативний вплив на захисні системи організму, що призводить до вираженого порушення їх функцій.

## БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ ПАТОГЕНЕЗУ ПЕРИФЕРИЧНОЇ ДІАБЕТИЧНОЇ НЕЙРОПАТІЇ

**М.М. Великий, Т.М. Кучмеровська<sup>1</sup>, М.В. Зарицька, О.В. Стеченко**  
*НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ*  
*ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ<sup>1</sup>*

Гіперглікемія як основний чинник патогенезу діабетичних ускладнень зумовлює численні структурні та метаболічні зміни в центральній і периферичній нервовій системі. За участю внутрішньоклітинних медіаторів (NO, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, ONOO<sup>-</sup>) індукується розвиток оксидативного стресу, посилюються процеси ПОЛ, посттрансляційної та окисної модифікації білків, активується поліоловий шлях обміну глюкози.

У роботі досліджували механізми активації поліолового шляху обміну глюкози, інтенсивність процесів ПОЛ та стан ферментних систем антиоксидантного захисту (АОЗ) в тканині сідничного нерва щурів при стрептозотоциновому діабеті (70 мг/1 кг маси тіла). Коригувальний вплив нікотинаміду (НАм) вивчали на фоні розвинутої гіперглікемії.

Показано зростання в тканині сідничного нерва щурів із діабетом вмісту глюкози в 5 разів, сорбітолу – в 13,2, фруктози – в 7,1 раза і, як наслідок, збільшення активності альдозоредуктази (АР) на 98 % та гальмування сорбітолдегідрогенази (СДГ) на 65 %. Швидкість перебігу АР- та СДГ-реакцій регулюється відношенням NAD(P)<sup>+</sup>/NAD(P)H в цитозолі

клітин, яке знижується при діабеті в 2,7 раза. НАм значно посилював біосинтез NAD<sup>+</sup> в тканинах щурів із діабетом та підвищував відношення NAD(P)<sup>+</sup>/NAD(P)H, що спричинило гальмування активності АР (на 42,2 %) та активацію СДГ (на 165 %). У результаті обмеженого утворення та посиленого розпаду вміст сорбітолу в тканині сідничного нерва зменшився в 6,3 раза.

Активация вільнорадикальних процесів у тканині сідничного нерва викликала достовірне зростання вмісту проміжних продуктів ПОЛ-дієнових кон'югат і кінцевих ТБК-активних продуктів. Вміст відновленого глутатіону та активність ферментів АОЗ (СОД, каталази та глутатіонпероксидази) знижувались. Одночасно в крові зростає рівень глікозильованого гемоглобіну (на 68 %). НАм викликав достовірне зниження інтенсивності ПОЛ та активацію ферментів АОЗ.

Отже, НАм як попередник у біосинтезі NAD<sup>+</sup> є ефективним регулятором поліолового шляху обміну глюкози, процесів ПОЛ та ферментів АОЗ і, тим самим, гальмує розвиток периферичної діабетичної нейропатії.

© М.М. Великий – д.мед.н., проф., Т.М. Кучмеровська, М.В. Зарицька, О.В. Стеченко, 2004.

## КАЛЬПАЇНИ, ХІМАЗА, ТОНІН ТА ЕЛАСТАЗИ ЗА УМОВ ГІПОМЕТАБОЛІЧНОГО СТАНУ В ХОМ'ЯКІВ

Л.М. Самохіна, В.В. Ломако<sup>1</sup>, О.І. Войтенко,  
А.В. Шило<sup>1</sup>, О.М. Щенявська, П.М. Зубов  
ІНСТИТУТ ТЕРАПІЇ АМН УКРАЇНИ

ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ ТА КРІОМЕДИЦИНИ НАН УКРАЇНИ, ХАРКІВ<sup>1</sup>

Гіпометаболічні стани (ГМС) характеризуються змінами у процесах розпаду і синтезу білків, в яких важливу роль відіграють протеїнази.

Метою роботи було визначити роль кальцієзалежних протеїназ – кальпаїнів, ферментів альтернативних шляхів утворення ангіотензину II (хімази, тоніну), деструкції ендотелію (еластаз різного генезу) – в формуванні ГМС.

ГМС викликали у дорослих хом'яків-самців узимку за методом Анджуса-Бахметьєва-Джайя. Досліджено 4 групи тварин: контроль, ГМС (3 год перебування в герметичній камері на холоді), через 2 та 24 год після ГМС (ранній і пізній етапи відновлення). Хом'яків декапітували. У сироватці крові, без'ядерних фракціях гомогенатів тканин гіпоталамуса (ГТ), кори (КМ) і стовбура мозку (СМ), мозочка, легень, серця, печінки і нирок визначали рівень хімази, тоніну, кальпаїнів, еластази, ендотеліальної еластази, металоеластази, еластазоінгібіторну активність  $\alpha$ -1-інгібітора протеїназ ( $\alpha$ -1-ІП) високочутливими ( $10^{-9}$ - $10^{-10}$  г) ферментативними методами, розробленими в Інституті терапії. Визначали оптичну щільність маркерного ферменту за

допомогою імуноферментного фотометра-аналізатора.

Показано, що розвиток ГМС може призводити до вазоконстрикції за рахунок синтезу і вивільнення хімази (участь печінки і нирок), до розщеплення білків цитоскелета та розвитку процесів клітинної смерті у СМ внаслідок активації кальпаїнів. Дисбаланс у системі "еластаза- $\alpha$ -1-ІП" може зумовлювати розвиток деструктивних процесів у легенях, мозочку за рахунок активації еластази і зниження рівня  $\alpha$ -1-ІП відповідно. Виявлено, що ГТ і СМ захищені від деструктивної дії еластаз.

Вказані зміни нормалізуються за 2 год відігрівання, за винятком кальпаїнів, їх рівень залишається підвищеним у СМ, зростає в легенях і нормалізується за 24 год лише в СМ. За 24 год відігрівання знову активуються деструктивні процеси за участю еластази в легенях, ендотеліальної еластази в легенях і значно – в ГТ.

Таким чином, визначення активності еластаз і кальпаїнів може бути критерієм прогнозу патогенетичних змін за умов ГМС.

© Л.М. Самохіна, В.В. Ломако, О.І. Войтенко, А.В. Шило<sup>1</sup>,  
О.М. Щенявська, П.М. Зубов, 2004.

## ЕТОПОЗИДІНДУКОВАНИЙ АПОПТОЗ ЛЕЙКЕМІЧНИХ КЛІТИН МТ-4 ЛЮДИНИ

**О.О. Фільченков, М.П. Завелевич, Н. Храповська, О.Л. Севко**  
ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ, ОНКОЛОГІЇ ТА РАДІОБІОЛОГІЇ  
НАН УКРАЇНИ  
ІНСТИТУТ ОНКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, КИЇВ

Регуляція апоптозу в нормі та у хворих на злоякісні гематологічні захворювання є важливим терапевтичним аспектом лікування лейкемії та лімфоми. Відомо, що цитотоксична дія більшості антиракових препаратів спрямована проти ракових клітин через індукцію каспазозалежного апоптозу. На даний час 12 видів каспаз задіяні в апоптозі. Серед них каспаза-3 вважається головною рушійною протеазою. Метою даного дослідження є аналіз каспазозалежного апоптозу, індукованого етопозидом, у лейкемічних клітинах МТ-4 людини за допомогою специфічних інгібіторів каспази-3.

Рівень апоптозу в клітинах МТ-4 оцінювали за допомогою трьох незалежних методик:

- 1) флуоресцентний мікроскопічний аналіз із використанням барвника Hoechst 33342;
- 2) цитометричний аналіз вмісту гіподиплоїдної ДНК у клітинах, забарвлених пропідіум йодидом;
- 3) дослідження Н-NMR – мобільних ліпідних зон (МЛЗ).

У клітини вводили 10 мг/мл етопозиду (Bristol Myers) протягом 18 год. Активацію каспази-3 оцінювали методом рідинної цитометрії за допомогою специфічного моноклонального антитіла С 92-605 антиактивної каспази-3. Для визначення ролі каспази-3 у відмиранні клітин, індукваному етопозидом, у клітини МТ-4

попередньо вводили протягом 1 год 20 мМ N – Acetyl – Asp – Val – al (Ac – DEVD – CHO) або N-Acetyl-Glu-Ser-Met-Asp-al (Ac-ESMD-CHO), а потім додатково вводили протягом 18 год 10 мг/мл етопозиду.

Під час лікування етопозидом має місце швидка активація прокаспази-3 у клітинах МТ-4, а також протягом години відбуваються характерні зміни у МЛЗ. Типові апоптотичні клітини, які визначали морфологічно та методом рідинної цитометрії, з'являлись не раніше ніж через 4 год. Після введення препарату відсоток клітин з активною каспазою-3 залишався на рівні близько 20 % упродовж 1-6 год. Після введення етопозиду. Протягом дослідження будь-який специфічний інгібітор каспази-3 блокував активацію каспази-3 у клітинах МТ-4. Незважаючи на це, специфічне інгібування каспази-3 не гальмувало значною мірою етопозидіндуковане відмирання клітин. Можливо, активована каспаза-3 задіяна в апоптозі разом з іншими каспазами. Таким чином, викликає інтерес пошук тієї каспази, яка б могла стати заміником каспази-3.

Проведені дослідження свідчать про те, що індукція апоптозу етопозидом у клітинах МТ-4 супроводжується активацією каспази-3, але специфічного інгібування цієї протеази недостатньо для попередження загибелі клітин, що відбувається за даних умов.



**МЕХАНІЗМИ ЗДІЙСНЕННЯ НЕЙРОМОДУЛЮЮЧОГО ВПЛИВУ  
НИКОТИНАМІДАДЕНІН ДИНУКЛЕОТИДУ**

**Т. Кучмеровська, І. Шиманський, Г. Донченко, М. Великий<sup>1</sup>, А. Клименко**  
*ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДІНА, КИЇВ*  
*НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ<sup>1</sup>*

---

Попередньо підтверджено, що НАД<sup>+</sup> специфічно зв'язується із синаптичними мембранами мозку щурів. Виявлено, що фізіологічна значимість такого зв'язку полягає у стимуляції звільнення декількох нейромедіаторів (серотоніну, допаміну, GABA). Передбачуваний механізм НАД-індукованого звільнення, можливо, пов'язаний із деполяризацією синаптичних мембран.

Синаптосоми кори мозку щурів видаляли шляхом центрифугування у градієнті цукрози. Трансмембранний потенціал плазми вимірювали за допомогою акумуляції радіоактивного катіону тетрафенілфосфонію [<sup>3</sup>H]ТФФ<sup>+</sup>.

Дія НАД<sup>+</sup> (1 ммоль/л) на синаптосоми інгібує акумуляцію [<sup>3</sup>H]ТФФ<sup>+</sup>, хоча сила цієї дії була майже вдвічі меншою порівняно з вера-

тридином (200 ммоль/л). Зниження проникності [<sup>3</sup>H]ТФФ<sup>+</sup> призводить до зменшення мембранного потенціалу плазми. Протягом дослідження впливу НАД<sup>+</sup> у різних концентраціях (10<sup>-3</sup>-10<sup>-8</sup> М) на мембранний потенціал синаптосом плазми встановлено його інгібіторну дію, залежну від концентрації. Величина мембранного потенціалу не залежала від наявності додаткової фосфатної групи у молекулі НАД<sup>+</sup> (у випадку НАДФ<sup>+</sup>). Ці зміни супроводжувались спроможністю НАД<sup>+</sup> до інгібіції активності Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФази. Отримані результати визначають вплив НАД<sup>+</sup> на синаптичні закінчення *in vitro*, що може корелювати з її біологічною силою дії *in vivo*. Дослідження може мати цінність для розуміння патології різноманітних захворювань нервової системи.

## РОЛЬ ВОРТМАНІНУ – СЕЛЕКТИВНОГО ІНГІБИТОРА ФОСФОІНОЗИТИД 3-КІНАЗИ – В АКТИВАЦІЇ ТРОМБОЦИТІВ ПРИ ІНСУЛІНОЗАЛЕЖНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ

М. Зарицька<sup>1</sup>, Н. Сибірна<sup>2</sup>, Л. Дробот<sup>3</sup>

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ<sup>1</sup>

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ІВАНА ФРАНКА<sup>2</sup>

ІНСТИТУТ КЛІТИННОЇ БІОЛОГІЇ НАН УКРАЇНИ, ЛЬВІВ<sup>3</sup>

Діабет асоціюється з підвищеним ризиком виникнення тромбоемболічних ускладнень. Тромбоцити підсилюють ці ускладнення. Завдяки гіпер-чутливості до агрегативних засобів вони підвищують свою активність, змінюючи функціональний стан.

Гальмуючи функцію тромбоцитів, NO відіграє роль у регуляції тромбозу та гемостазу. Інгібіторні механізми тромбоцитів, які регулюються NO, порушуються в стані діабету. Однак сигнальні провідні шляхи, що лежать в основі інгібіторної дії NO на тромбоцити при інсулінозалежному цукровому діабеті (ІЗЦД), вивчено недостатньо. Одним із сигнальних механізмів, що відіграють важливу роль в активації тромбоцитів, є їх стимуляція фосфоінозитид 3-кіназою (PI3-кіназою). Результатом стимуляції тромбоцитів є активація та транслокація PI3-кінази до цитоскелета в місцях інтегринозалежних вогнищевих адгезій, де ензим бере участь у реорганізації цитоскелета.

Окис азоту може спричиняти дезагрегацію тромбоцитів шляхом активації cGMP-протеїн-

кінази, яка, як відомо, інактивує провідні шляхи протеїнкінази C/інозитулу трифосфату. Активація PI3-кінази перетворює агрегацію у незворотний процес. Саме тому припускають, що NO виконує антитромбоцитарну функцію шляхом гальмування PI3-кінази. Завдяки цьому оцінено антитромбоцитарну дію вортманіну – селективного інгібітора PI3-кінази у здорових донорів та у хворих на ІЗЦД.

Уперше показано значне зниження агрегації після попередньої інкубації збагаченої тромбоцитами плазми здорових донорів з вортманіном (у концентрації 100 нМ). У хворих на ІЗЦД цей ефект був менш вираженим, ніж у контролі, або ж недостатньо визначався. Рівень  $\text{NO}_2^-$  та  $\text{NO}_3^-$  у контрольній плазмі після попередньої інкубації з вортманіном був вищим, ніж у не інкубованій контрольній плазмі. У тромбоцитах хворих на ІЗЦД не виявлено значної різниці між рівнями продуктів NO не інкубованої та попередньо інкубованої плазми ( $\text{NO}_2^-$  та  $\text{NO}_3^-$ ).

## ПОРУШЕННЯ СКЛАДУ КОЛАГЕНУ І ТИПУ ПРИ РІЗНИХ СТАДІЯХ ЛЕЙКОЗУ ТА ШЛЯХИ ЇХ КОРЕКЦІЇ У МИШЕЙ ЛІНІЇ АКР-50

**Т.М. Печенова, Т.Т. Володіна, Л.Б. Бондаренко, Н.М. Попова**  
*ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ НАН УКРАЇНИ ІМ. О.В. ПАЛАДІНА, КИЇВ*

---

Захворюванням на лейкемії передують (або супроводжують їх) ускладнення з боку – кісткової та сполучної тканин. Метою даної роботи було вивчення можливості корекції якісних змін у колагені І типу, що є основою сполучнотканинних структур та органічного матриксу кісток, за допомогою препаратів на основі амінокислот. Експерименти проводили на мишах високолейкозної лінії АКР-50. За допомогою амінокислотного аналізатора визначали амінокислотний склад колагенів І типу кістки та шкіри мишей на стадіях передлейкозу (7 міс.) та розгорнутого лейкозу (9 міс.). Показано, що вже на стадії передлейкозу колаген кістки відзначався змінами в амінокислотному і субодичному складі, підвищеним ступенем зшитості колагенових молекул, змінами її поверхневого заряду. В шкірі аналогічні зміни виражені значно слабше.

Застосування препаратів на основі різних амінокислот дозволяло досягти достовірної нормалізації складу колагену як у кістці, так і в шкірі. На стадії розгорнутого лейкозу колаген кістки характеризувався підвищенням ступеня зшитості його молекул між собою, змінами в складі амінокислот і зростанням жорсткості колагенової спіралі. У колагені шкіри вказані зміни менш виражені. Застосування амінокислотних препаратів на даній стадії захворювання коригувало склад колагенів слабше, що, очевидно, пов'язано з тяжкістю та необоротністю змін у метаболічних процесах організму на стадії гострого розгорнутого лейкозу.

Таким чином, результати проведених досліджень показали коригувальний ефект препаратів на основі амінокислотного складу колагенів І типу шкіри та кісток мишей високолейкозної лінії АКР-50 на різних стадіях лейкозу.

## СТАН ПРОЦЕСІВ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ В РЕПРОДУКТИВНИХ ОРГАНАХ ЩУРІВ-САМИЦЬ ЗА УМОВ СТРЕСУ ТА ЗАСТОСУВАННЯ МЕЛАТОНІНУ

О.В. Сомова, Т.В. Жукова<sup>1</sup>

ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ЕНДОКРИННОЇ ПАТОЛОГІЇ ІМ. В.Я. ДАНИЛЕВСЬКОГО, ХАРКІВ,  
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В.М. КАРАЗІНА<sup>1</sup>

Відомо, що за умов стресу відбуваються активація процесів вільнорадикального окиснення (ВРО) та зрив антиоксидантного захисту (АОЗ) організму. Тому в антистресовій профілактиці вагоме місце займають антиоксиданти, а серед них – мелатонін (М), ефекти якого за різних обставин можуть бути навіть протилежними. Особливо це стосується його впливу на жіночий організм, метаболічні реакції якого на дію багатьох чинників залежать від стадії циклу статеві системи. Враховуючи це, метою роботи було вивчення особливостей перебігу процесів ВРО ліпідів та активності систем АОЗ у репродуктивних органах щурів-самиць які зазнали запального стресу, залежно від стадії естрального циклу та введення М.

Інтенсивність ВРО ліпідів та активність АОЗ оцінювали за параметрами спонтанної та індукованої  $Fe^{2+}$  і  $H_2O_2$  хемілюмінесценції (ХЛ) та вмістом малонового діальдегіду (МДА) в гомогенатах яєчників, матки та сироватці крові статевозрілих щурів-самиць: 1) які одержували М у дозі 2 мг/кг протягом 14 днів наприкінці світлової доби; 2) в яких викликали гострий запальний стрес шляхом одноразового введення NaCl у дозі 1 г/кг в метаеструсі; 3) яким після ін'єкції NaCl 14 діб вводили М та 4) яким

вводили 0,9 % NaCl (контроль). Евтаназію здійснювали з урахуванням стадій циклу.

Показано, що у контролі інтенсивність спонтанної ХЛ, амплітуда спалаху і світлосума  $Fe^{2+}$ - та  $H_2O_2$ -індукованої ХЛ гомогенатів матки та сироватки крові достовірно збільшувалися в еструсі в 1,3-1,5 раза порівняно з діеструсом, що вказувало на активацію ВРО ліпідів та послаблення систем АОЗ. В яєчниках найбільша інтенсивність ВРО була в діеструсі, що підтверджувалося і підвищенням вмістом МДА. За умов стресу спостерігалось суттєве порушення естрального циклу та 1,5-2,0-разове зростання параметрів  $Fe^{2+}$ - і  $H_2O_2$ -індукованої ХЛ, більш виражене в діеструсі, причому в обох органах. Введення М інтактним самицям нівелювало різницю в інтенсивності перебігу ВРО, що спостерігалася між стадіями циклу, однак змінювало тривалість циклу, скорочуючи еструс. У стресованих тварин М виявляв АО ефект, нормалізуючи значення показників, проте порушений цикл не відновлював.

Таким чином, застосовувати М для корекції проАО-/АО балансу організму в жінок слід з урахуванням специфіки його впливу на органи репродуктивної системи.

## ВПЛИВ ТРИВАЛОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ НА АКТИВНІСТЬ КАТАЛАЗИ У ПЛАЗМІ, ЕРИТРОЦИТАХ ТА ЦІЛЬНІЙ КРОВІ ЩУРІВ

К.П. Дудок<sup>1</sup>, О.М. Мороз<sup>3</sup>, І.Й. Влох<sup>3</sup>, Р.О. Влох<sup>2</sup>, Н.В. Ільчишин<sup>1</sup>

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ІВАНА ФРАНКА<sup>1</sup>

ІНСТИТУТ ФІЗИЧНОЇ ОПТИКИ МОН УКРАЇНИ<sup>2</sup>

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО<sup>3</sup>

Відомо, що в процесі катаболізму етилового спирту утворюється ацетальдегід, зростає вміст інтерцелюлярного НАД, інтенсифікуються процеси вільнорадикального окиснення ліпідів біомембран. Провідна роль в окисненні етанолу належить алкогольдегідрогеназі, яка є цитозольним НАД-залежним ферментом. Однак активність цього ферменту в різних тканинах проявляється не завжди однаково. В організмі існує альтернативний шлях окиснення етилового спирту. Він зумовлений каталазою активністю. Швидкість такої реакції залежить від концентрації етанолу, активності ферменту та інтенсивності генерації пероксиду водню. Так окиснюється невелика кількість етанолу.

Метою нашої роботи було дослідження активності каталази у цільній крові, плазмі та еритроцитах щурів за довготривалої алкогольної інтоксикації. У досліджах застосовували безпородних білих щурів масою 180-220 г, які приймали 15 % розчин етилового спирту протягом 3-10 місяців. Алкоголізовані тварини давали потомство, яке також вживало алкоголь і було використане у досліджах. Активність каталази у плазмі крові контрольної групи щурів

у розрахунку на білок становила (15,3±1,6) нмоль/(хв·мг). У плазмі крові першого покоління алкоголізованих щурів активність каталази зростала до (44,3±1,6) нмоль/(хв·мг) (алкоголізація 10 міс.). У другого покоління вона становила (33,4±1,7) нмоль/(хв·мг). Третє покоління вживало алкоголь 3 місяці, активність каталази складала (68,6±1,8) нмоль/(хв·мг). У третього покоління, яке народжене від алкоголізованих батьків, але само не вживало алкоголь, вона дорівнювала (43,0±0,9) нмоль/(хв·мг).

Активність каталази у цільній крові щурів становила: контрольні тварини – (169,0±2,8) нмоль/(хв·мг); у першого покоління алкоголізованих тварин – (355,0±5,6) нмоль/(хв·мг); у другого покоління – (283,0±4,2) нмоль/(хв·мг). У гемолізатах еритроцитів активність каталази у дослідних групах щурів у два рази була вищою, ніж у контрольних.

Виявлене нами значне зростання активності каталази у компонентах крові алкоголізованих щурів, очевидно, зумовлене тим, що за даних умов антиоксидантна система, яка протидіє впливові вільних радикалів, перебуває у стресовому стані.

© Л.М. Самохіна, В.В. Ломако, О.І. Войтенко, А.В. Шило<sup>1</sup>,  
О.М. Щенявська, П.М. Зубов, 2004.