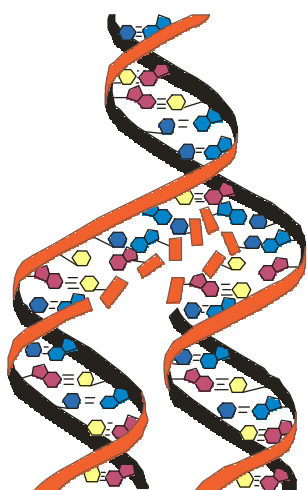


Академія медичних наук України
Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського
Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця
Українська Академія наук

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

4 TOM 6
2004

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

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

МЕДИЧНА ХІМІЯ

Науковий журнал

MEDICAL CHEMISTRY

Scientific Journal

ISSN 1681-2557

Виходить з 1999 року
Published since 1999

Свідоцтво про державну реєстрацію: серія KB № 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
<http://www.tdmu.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) МОДЕЛЮВАННЯ ПРОЦЕСІВ ОКИСНЕННЯ ІЗОНІАЗИДУ ТА ІНШИХ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНИХ ЗАСОБІВ 5
- Ісаєв С.Г., Чикіна О.Л., Жегунова Г.П. (Харків) СИНТЕЗ І ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ 3,5-ДИНІТРО-N-ФЕНІЛАНТРАНИЛОВИХ КИСЛОТ 13
- Болоховець Г.С., Кисличенко В.С. (Харків) ВИВЧЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У ТРАВІ РОЗТОРОПШІ ПЛЯМИСТОЇ 18
- Ярош О.К., Трінус Ф.П., Бухтіарова Т.А., Ядловський О.Є., Шатиркіна Т.В., Ніколаєва А.П., Хоменко В.С., Омельяненко З.П. (Київ) ФАРМАКОКІНЕТИКА НОВОГО НЕОПІОЇДНОГО АНАЛЬГЕТИКА ПІРОДАЗОЛУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ 23
- Мищенко О.Я., Яковлева Л.В. (Харків) ФАРМАКОЛОГІЧНИЙ СКРИНІНГ АКТОПРОТЕКТОРНОЇ АКТИВНОСТІ НОВИХ ЗАСОБІВ ПРИРОДНОГО ПОХОДЖЕННЯ 28
- Посохова К.А., Гриців О.В., Кліш І.М. (Тернопіль) ВПЛИВ L-АРГІНІНУ, N-НІТРО-L-АРГІНІНУ ТА АМІНОГУАНІДИНУ НА МЕТАБОЛІЧНІ ПРОЦЕСИ У МОЗКУ ПРИ ХРОНІЧНІЙ ГЕМІЧНІЙ ГІПОКСІЇ, СПРИЧИНЕНІЙ ЧАДНИМ ГАЗОМ 33
- Яворовська О.О. (Київ) ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЗМІН ЖИРНОКИСЛОТНОГО СПЕКТРА СИРОВАТКИ КРОВІ ПРИ ПОВЕРХНЕВИХ ВАСКУЛІТАХ ШКІРИ І ПАРАПСОРІАЗАХ 38
- Головка Л.Л. (Тернопіль) КОРЕКЦІЯ ГІСТИДИНАТОМ МІДІ ПОРУШЕНЬ ЗАХИСНИХ СИСТЕМ ОРГАНІЗМУ, ВИКЛИКАНИХ ВПЛИВОМ ПОЄДНАНОГО ВВЕДЕННЯ НІТРИТІВ ТА СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ 42
- Омельченко З.І., Кисличенко В.С. (Харків) ДОСЛІДЖЕННЯ БІЛКОВО-АМІНОКИСЛОТНОГО ТА МІНЕРАЛЬНОГО КОМПЛЕКСІВ ЗЕРНА ЧУМИЗИ 47
- Марчишин С.М., Дахим І.С. (Тернопіль) ДОСЛІДЖЕННЯ ХІМІЧНОГО СКЛАДУ НАДЗЕМНОЇ ЧАСТИНИ ПИРІЮ ПОВЗУЧОГО AGROPYRON REPENS L. 50
- Кривцова М.В. (Ужгород) ПОКАЗНИКИ ЛЕЙКОЦИТАРНОЇ ФОРМУЛИ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ЦИНКОВОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ МОНОСПОРИНОМ-ПК 55
- Журавель І.О., Малоштан Л.М., Маркова В.М., Коваленко С.М., Іванов В.В. (Харків) ЦИТОТОКСИЧНА ДІЯ 5-ГІДРОКСИМЕТИЛ-2-ІМІНО-8-МЕТИЛ-2Н-ПІРАНО[2,3-с]ПІРИДИН-3-(N-АРИЛ)КАРБОКСАМІДІВ 59
- Гальченко С.Є., Белочкіна І.В., Мамонтова А.В., Михайлова І.П., Сандомирський Б.П. (Харків) ВПЛИВ ПРЕПАРАТІВ ІЗ КСЕНОГЕННОЇ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ НА РІВЕНЬ ГЛІКЕМІЇ І ВІЛЬНОРАДІКАЛЬНІ ПРОЦЕСИ У ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 63
- Самохіна Л.М., Коваль С.М., Старченко Т.Г., Войтенко О.І., Несен А.О. (Харків) ЕЛАСТАЗИ, КАТЕПСИН G ТА ПРОДУКТИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ХВОРИХ НА ГІПЕРТОНІЧНУ ХВОРОБУ ІЗ СУПРОВІДНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2-ГО ТИПУ 68
- Чорна В.І., Лянна О.Л., Ніколаєнко Т.П., Хворостенко М.І. (Дніпропетровськ) КЛІНІЧНІ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ЛІЗОСОМНИХ ЦИСТЕЇНОВИХ ПРОТЕЇНАЗ КРОВІ 73
- Дмитрієва К.Ю. (Вінниця) ПОКАЗНИКИ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ, ОКСИДАТИВНОГО ТА НІТРОЗАТИВНОГО СТРЕСІВ ПРИ ОПІКАХ ШКІРИ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ЗАСТОСУВАННЯ МЕКСИДОЛУ І ТРИМЕТАЗИДИНУ 77

Contents

ORIGINAL INVESTIGATIONS

- Hubsky H.I., L.V. Gayova, Bobkova L.S. (Kyiv) MODELLING OF PROCESSES OF ISONIAZID OXIDATION AND OTHER ANTITUBERCULOSIS DRUGS 5
- Isayev S.G., Chykina L.L., Zhegunova G.P. (Kharkiv) SYNTHESIS AND RESEARCH OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF 3,5-DINITRO-N-PHENYLANTHRANILIC ACIDS 13
- Bolokhovets H.S., Kyslychenko V.S. (Kharkiv) THE STUDY OF PHENOLIC COMPOUNDS IN GRASS OF MILK THISTLE 18
- Yarosh O.K., Trinus F.P., Bukhtiarova T.A., Yadlovsky O.Y., Shatyorkina T.V., Nikolayeva A.P., Khomenko V.S., Omeliyanenko Z.P. (Kyiv) PHARMACOKINETICS OF NEW NONOPIOID ANALGESIC PIRODAZOL IN EXPERIMENT 23
- Mischenko O.Y., Yakovlyeva L.V. (Kharkiv) PHARMACOLOGICAL SCREENING OF ACTOPROTECTIVE ACTIVITY OF NEW REMEDIES OF NATURAL ORIGIN 28
- Posokhova K.A., Hrytsiv O.V., Klisch I.M. (Ternopil) EFFECT OF L-ARGININE, N-NITRO-L-ARGININE AND AMINOGUANIDINE ON METABOLIC PROCESSES IN BRAIN AT CHRONIC HAEMIC HYPOXIA, CAUSED BY CARBON MONOXIDE 33
- Yavorovska O.O. (Kyiv) COMPARATIVE ESTIMATION OF CHANGES OF FATTY-ACID SPECTRUM OF BLOOD SERUM AT SUPERFICIAL CUTANEOUS VASCULITES AND PARAPSORIASIS 38
- Holovko L.L. (Ternopil) CORRECTION BY COPPER HISTIDINATE OF VIOLATIONS OF ORGANISM PROTECTIVE SYSTEMS CAUSED BY INFLUENCE OF COMBINED INTRODUCTION OF NITRITES AND SALTS OF HEAVY METALS 42
- Omelchenko Z.I., Kyslychenko V.S. (Kharkiv) RESEARCH OF PROTEIN-AMINOACIDIC AND MINERAL COMPLEXES OF SETARIA ITALICA GRAIN 47
- Marchyshyn S.M., Dakhym I.S. (Ternopil) RESEARCH OF CHEMICAL COMPOSITION OF THE COUCHGRASS HERB AGROPYRON REPENS L. 50
- Kryvtsova M.V. (Uzhhorod) WHITE BLOOD COUNT INDICES OF LABORATORY ANIMALS DURING EXPERIMENTAL ZINC INTOXICATION AND THEIR CORRECTION WITH MONOSPORYN-PK 55
- Zhuravel' I.O., Maloshtan L.M., Markova V.M., Kovalenko S.M., Ivanov V.V. (Kharkiv) CYTOTOXIC ACTION OF 5-HYDROXYMETHYL-2-IMINO-8-METHYL-2H-PYRANO[2,3-c]PYRIDIN-3-(N-ARYL)CARBOXAMIDES 59
- Galchenko S.Y., Bielochkina I.V., Mamontova A.V., Mykhailova I.P., Sandomyrsky B.P. (Kharkiv) EFFECT OF PREPARATION FROM XENOGENIC PANCREAS ON GLYCEMIA LEVEL AND FREE-RADICAL PROCESSES IN RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS 63
- Samokhina L.M., Koval S.M., Starchenko T.G., Voytenko O.I., Nesen A.O. (Kharkiv) ELASTASES, CATHEPSIN G AND PRODUCTS OF LIPID PEROXIDATION IN THE PATIENTS WITH HYPERTENSION AND CONCOMITANT TYPE 2 DIABETES MELLITUS 68
- Chorna V.I., Lyanna O.L., Nikolayenko T.P., Khvorostenko M.I. (Dnipropetrovsk) CLINICAL AND EXPERIMENTAL RESEARCHES OF BLOOD LYSOSOMAL CYSTEINE PROTEINASES 73
- Dmytriyeva K.Y. (Vinnytsia) INDICES OF ENDOGENIC INTOXICATION, OXIDATIVE AND NITROZATIVE STRESS AT SKIN BURNS IN RATS IN CONDITIONS OF MEXIDOL AND TRIMETAZIDINE APPLICATION 77

<i>Господарський І.Я.</i> (Тернопіль) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ТИПУ КРІОГЛОБУЛІНЕМІЇ	81	<i>Hospodarsky I.Ya.</i> (Ternopil) METHOD OF DIAGNOSTICS OF CRYOGLOBULINAEMIA TYPE
<i>Гиріна О.М., Лебединська М.Р., Брюзгіна Т.С.</i> (Київ) ОЦІНКА СТУПЕНЯ ВАЖКОСТІ ПАТОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ У ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ	84	<i>Hyrina O.M., Lebedynska M.R., Briuzgina T.S.</i> (Kyiv) EVALUATION OF THE DEGREE OF PATHOLOGICAL PROCESS SEVERITY IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE
<i>Герасимова О.О., Яковлева Л.В., Шаповал О.М.</i> (Харків) ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ АНТИЕКСУДАТИВНОЇ ДІЇ НОВОГО ПРЕПАРАТУ "АНАЛЬБЕН" ТА НЕСТЕРОЇДНИХ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ЗАСОБІВ РІЗНИХ ПОКОЛІНЬ	88	<i>Herasymova O.O., Yakovlyeva L.V., Shapoval O.M.</i> (Kharkiv) COMPARATIVE ANALYSIS OF ANTIEXUDATIVE ACTION OF NEW REMEDI "ANALBEN" AND NONSTEROID ANTIINFLAMMATORY DRUGS OF VARIOUS GENERATIONS
<i>Юрженко А.В.</i> (Київ) ВИВЧЕННЯ СПЕКТРА ВИЩИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ ЛІПІДІВ РОТОВОЇ РІДИНИ У ХВОРИХ НА ГЕНЕРАЛІЗОВАНИЙ ПАРОДОНТИТ	92	<i>Yurzhenko A.V.</i> (Kyiv) RESEARCH OF HIGHER FATTY-ACID SPECTRUM OF MOUTH LIQUID LIPIDS IN PATIENTS WITH GENERALIZED PERIODONTITIS
<i>Кульчицький О.К., Потапенко Р.І., Ніжанковська О.В.</i> (Київ) РІВЕНЬ СТАБІЛЬНИХ МЕТАБОЛІТІВ ОКСИДУ АЗОТУ В ПЛАЗМІ КРОВІ ТА СУДИННИЙ СТІНЦІ У ЩУРІВ ПРИ СТАРІННІ	95	<i>Kulchytsky O.K., Potapenko R.I., Nizhankovska O.V.</i> (Kyiv) BLOOD PLASMA AND VASCULAR WALL STABLE NITROGEN OXIDE METABOLITE LEVELS IN AGING RATS
<i>Малець Еззеддін Фуад, Рижченко І.М., Міщенко О.Я.</i> (Харків) ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОСТАТОПРОТЕКТОРНОЇ АКТИВНОСТІ СУПОЗИТОРІЇВ "ФЛАГІНАТ" НА МОДЕЛІ СКІПИДАРНОГО ПРОСТАТИТУ	98	<i>Malek Ezzeddine Fouad, Ryzhenko I.M., Mischenko O.Y.</i> (Kharkiv) EXPERIMENTAL INVESTIGATION OF PROSTATOPROTECTIVE ACTIVITY OF SUPPOSITORIES "FLAGINAT" IN TERPINTINE PROSTATITIS MODEL
<i>Хара М.Р.</i> (Тернопіль) ВПЛИВ КАРБАХОЛІНУ ТА КАСТРАЦІЇ НА ГЛІКОЛІЗ, ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДНУ СИСТЕМУ МІОКАРДА ЩУРІВ САМЦІВ І САМОК ПРИ АДРЕНАЛІНОВОМУ ПОШКОДЖЕННІ	102	<i>Khara M.R.</i> (Ternopil) CARBACHOLIN AND CASTRATION INFLUENCE ON GLYCOLYSIS, LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT SYSTEM OF RAT MALE AND FEMALE MYOCARDIUM AT ADRENALIN INJURY
<i>Ніколаєва В.В.</i> (Тернопіль) ВПЛИВ ПРОФІЛАКТИЧНОГО ВВЕДЕННЯ ГЛУТАРГІНУ ТА N-НІТРО-L-АРГІНІНУ НА ДЕЯКІ БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПРИ ГЕМІЧНІЙ ГІПОКСІЇ, ВИКЛИКАНІЙ ІНГАЛЯЦІЄЮ ЧАДНОГО ГАЗУ	105	<i>Nikolayeva V.V.</i> (Ternopil) INFLUENCE OF PROPHY-LACTIC INJECTION OF GLUTARGIN AND N-NITRO-L-ARGININ ON SOME BIOCHEMICAL INDICES AT THE HEMIC HYPOXIA, CAUSED BY INHALATION OF CARBON MONOXIDE
<i>Покотило О.С., Фіра Л.С., Кліш І.М.</i> (Тернопіль) ВПЛИВ ПОЛІЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ РОДИН n-3 І n-6 НА СИНТЕЗ БІЛКІВ IN VITRO У ТКАНИНАХ ЩУРІВ ПРИ ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЇ	108	<i>Pokotylo O.S., Fira L.S., Klisch I.M.</i> (Ternopil) INFLUENCE OF POLYUNSATURATED FATTY ACIDS OF FAMILY n-3 AND n-6 ON SYNTHESIS IN VITRO IN TISSUES OF RATS AT HYPERCHOLESTEROLEMIA
КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ		
<i>Терлецька О.І., Чупашко О.Я., Петришин Ю.С., Ковальчук С.М.</i> (Львів) ЗМІНИ АКТИВНОСТІ АТФАЗИ ТА ОПТИЧНОЇ ГУСТИНИ У МІТОХОНДРІЯХ ТКАНИН ПЕЧІНКИ ТА СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ТОНКОЇ КИШКИ ПРИ РОЗВИТКУ АДАПТАЦІЙНОГО СИНДРОМУ	112	<i>Terletska O.I., Chupashko O.Ya., Petryshyn Y.S., Kovalchuk S.M.</i> (Lviv) CHANGES OF ATPase ACTIVITY AND OPTIC DENSITY IN MITOCHONDRIAS OF LIVER AND SMALL INTESTINE MUCOSE MEMBRANE TISSUES UNDER THE CONDITIONS OF ADAPTIVE SYNDROME DEVELOPMENT
<i>Мельничук С.Д., Вихованець В.І.</i> (Київ) ДИНАМІКА ВМІСТУ АДЕНІНОВИХ НУКЛЕОТИДІВ ЗА УМОВ ШТУЧНОГО ГІПОБІОЗУ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ	115	<i>Melnychuk S.D., Vykhovanets V.I.</i> (Kyiv) DYNAMICS OF CONTENT OF THE ADENINNUCLEOTIDES UNDER CONDITIONS OF ARTIFICIAL HYPOBIOSIS IN LIVER OF RATS
МЕТОДИ БІОХІМІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ		
<i>Файфура В.В., Сас Л.М., Потіха Н.Я., Дзига С.В.</i> (Тернопіль) БІОЛОГІЧНИЙ МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ АЦЕТИЛХОЛІНУ В МІОКАРДІ ЩУРІВ	118	<i>Faifura V.V., Sas L.M., Potikha N.Ya., Dzyga S.V.</i> (Ternopil) BIOLOGICAL METHOD OF ACETYLCHOLINE CONTENT DETERMINATION IN RAT MYOCARDIUM
<i>Васюк С.О., Тарханова О.О., Петренко В.В.</i> (Запоріжжя) СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ МЕТИЛСАЛІЦИЛАТУ В ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ	122	<i>Vasjuk S.A., Tarkhanova O.A., Petrenko V.V.</i> (Zaporizhzhia) SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF METHYL SALICYLATE IN DRUG FORMS
ОГЛЯДИ		
<i>Бухтіарова Т.А., Омеляненко З.П., Бобкова Л.С., Даниленко В.П., Хоменко В.С., Ядловський О.Є., Шатиркіна Т.В., Голубов М.І.</i> (Київ) СУЧАСНІ НАУКОВІ НАПРЯМКИ СТВОРЕННЯ НЕОПІОЇДНИХ ЗНЕБОЛЮВАЛЬНИХ ЗАСОБІВ	125	<i>Buhtiarova T.A., Omelianenko Z.P., Bobkova L.S., Danilenko V.P., Khomenko V.S., Yadlovsky O.Y., Shatyrykina T.V., Golubov M.I.</i> (Kyiv) MODERN SCIENTIFIC DIRECTIONS OF CREATION OF NONOPIOID ANALGETIC AGENTS
<i>Антоняк Г.Л., Бабич Н.О., Бабич Т.В., Панас Н.Є., Снітинська О.В.</i> (Львів) РОЛЬ ГОРМОНІВ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ В РЕГУЛЯЦІЇ ПРОЦЕСІВ ГЕМОПОЕЗУ	132	<i>Antonyak H.L., Babych N.O., Babych T.V., Panas N.Y., Snitynska O.V.</i> (Lviv) ROLE OF THYROID GLAND HORMONES IN REGULATION OF HAEMOPOIESIS
BRIEF REPORTS		
METHODS OF BIOCHEMICAL INVESTIGATIONS		
REVIEWS		

МОДЕЛЮВАННЯ ПРОЦЕСІВ ОКИСНЕННЯ ІЗОНІАЗИДУ
ТА ІНШИХ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНИХ ЗАСОБІВЮ.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 енергію окиснення відомих протитуберкульозних засобів – ізоніазиду, метазида, фтивазида, салюзиду та рифаміцину – до вільних радикалів. Проведено кількісне порівняння можливості реалізації різних напрямків цього процесу. Встановлено, що найлегше утворюються радикали на атомі азоту амідного фрагмента молекули ізоніазиду та його похідних. Усі вивчені препарати характеризуються близькими та відносно низькими значеннями енергії утворення радикала з нейтральної молекули. Висока антиоксидантна активність цих сполук може свідчити про можливість їх дії в організмі радикального механізму.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ізоніазид, метазид, фтивазид, салюзид, рифаміцин, радикали, окиснення, квантово-хімічні розрахунки.

ВСТУП. Як відомо, один із можливих молекулярних механізмів дії ізоніазиду (1) полягає у його взаємодії з ферментом-окиснювачем – оксидазою [1-9, 11, 12]. Наявність у молекулі ізоніазиду незаміщеної гідразидної групи зумовлює не тільки її сильні лужні та нуклеофільні властивості, але й виражену антиоксидантну дію. Гідразини та гідразиди, що містять -NH-NH-фрагмент, під впливом окиснювачів легко окиснюються до азосполук – N=N-, які самі є реакційноздатними і можуть вступати в подальші перетворення.

У цьому сенсі важливо оцінити можливість такого радикального процесу для молекули ізоніазиду і порівняти його з іншими відомими протитуберкульозними засобами – метазидом (2), фтивазидом (3), салюзидом (4) та рифаміцином (5). Усі вони, за винятком рифаміцину, є похідними ізоніазиду, його близькими структурними аналогами. За хімічною будовою, до складу молекул метазида (2) входить дві молекули ізоніазиду, з'єднані між собою через метиленову групу. Фтивазид (3) та салюзид (4) належать до гідразонів – продуктів конденсації гідразидної групи ізоніазиду з альдегідною групою заміщеного бензальдегіду.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. За допомогою спеціалізованої програми "HyperChem Release

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

7.0 було розраховано енергетичні характеристики (виграш або поглинання енергії) в процесі утворення вільних радикалів із нейтральних молекул або в ході інших молекулярних перетворень [10]. Для цього спочатку проводили оптимізацію кожної молекули або радикала за алгоритмом Парра-Паризера-Попла (PM3) з використанням необмеженого методу Хартлі-Фока (UHF), в ході якої молекула досягає свого найнижчого енергетичного рівня. Потім для оптимізованої молекули розраховували її енергію зв'язування, тобто енергію, яку треба прикласти ззовні для того, щоб перетворити молекулу на сукупність ізольованих атомів. Далі, за отриманими значеннями енергій зв'язування кінцевих продуктів реакції та вихідних молекул, розраховували загальний енергетичний баланс у ході процесу. Знак "мінус" свідчить про те, що енергія виділяється під час процесу, а "плюс" – поглинається ззовні.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У таблиці 1 наведено енергії зв'язування, отримані за результатами розрахунків оптимізації нейтральних молекул та радикалів вищезазначених препаратів. У реакціях окиснення за гомолітичним механізмом найважливішим є перший етап, коли під дією окиснювача відбуваються відрив атома водню та утворення короткоіснуючого радикала. Енергія цього процесу значною мірою залежить від природи атома, з

яким водень утворює безпосередній зв'язок, а також від легкості делокалізації неспареного електрона в утвореному радикалі. Теоретично утворення вільного радикала з нейтральної молекули може відбуватись за кількома напрямками залежно від атома та групи, до якої приєднаний атом водню. На рисунках 1-5 для кожного досліджуваного препарату показано такі схеми процесу їх окиснення, які призводять до утворення різних радикалів. Цифра над стрілкою показує енергію, яку треба прикласти ззовні для утворення відповідного радикала (Еутв.). Очевидно, чим менша ця енергія, тим імовірніше і легше буде утворюватись такий радикал.

На рисунку 1 показано схему окиснення ізоніазиду (1). Найлегше окиснюється атом водню аміногрупи, яка розташована біля карбонільної групи (Еутв.=66,81 ккал/моль, радикал (1.3)). Це пояснюється легкістю делокалізації неспареного електрона як на карбонільній групі, так і на ароматичному фрагменті. Аналогічний радикал (1.1) (Еутв.=73,16 ккал/моль) з неспареним електроном на кінцевому атомі азоту, який вже не спряжений з іншою частиною молекули, виявився менш вигідним, і на його утворення витрачається більше енергії. Розрив зв'язку С-Н з утворенням арильного радикала (1.2) потребує найбільшої кількості енергії (Еутв.= 02,30 ккал/моль) і тому є найменш вигідним. Таким чином, можна зробити висновок, що окиснення ізоніазиду під дією ферментів повинно розпочатися заміщеному атомі азоту з утворенням радикала (1.3). Зазвичай, такі радикали стабілізуються за рахунок вивільнення другого атома водню з утворенням азосполуки (1.4). Даний процес відбувається значно легше, ніж перший, і потребує вже 60,30 ккал/моль. Найімовірніше, процес на цьому не зупиниться, а під дією окиснювача продовжиться з вилученням останнього N-H-атома водню, тим паче, що він потребує ще менше енергії (Еутв.=60,23 ккал/моль). Отриманий таким чином азорадикал (1.5) буде мимовільно стабілізуватись за рахунок відщеплення молекули азоту з утворенням нового ізонікотиніольного радикала (1.6). Вивільнення енергії в кількості 9,9 ккал/моль робить зазначений процес досить вигідним. у свою чергу, утворений ізонікотиніольний радикал (1.6) є досить реакційноздатним і легко може взаємодіяти як з іншими вільними радикалами, так і з відповідними нейтральними молекулами, утворюючи з ними нові радикали і, таким чином, перериваючи нормальний метаболізм речовин в організмі.

На користь такого чи подібного механізму свідчить той факт, що інші відомі протитуберкульозні препарати також здатні, під дією окис-

нювача, проявляти антиокиснювальні властивості й досить легко утворювати вільні радикали.

На рисунку 2 показано схему окиснення найближчого аналога ізоніазиду – метазиду. Для метазиду також характерне більш легке утворення радикала на амідному атомі азоту (Еутв.=66,69 ккал/моль, радикал (2.3)), ніж на амінному (Еутв.=71,23 ккал/моль, радикал (2.1)). Порівняно з ізоніазидом додаткова метиленова група, введена до кінцевого атома азоту, дещо зменшує енергію утворення радикалів за означеними вище напрямками. Наявність двох аміногруп біля метиленової групи різко зменшує енергію розриву С-Н-зв'язку за рахунок сильної делокалізації неспареного електрона на сусідніх атомах азоту. Енергія утворення вуглецьцентрованого радикала (2.2) (Еутв.=72,23 ккал/моль) лише на 1 ккал/моль перевищує енергію утворення азотцентрованого радикала (2.1).

Подальша стабілізація найбільш вигідного радикалу (2.3), ймовірно, відбувається, як і у випадку з ізоніазидом, за рахунок окиснення другого атома водню з утворенням азосполуки (2.4). Для метазиду цей етап потребує ще менше енергії (Еутв.=54,30 ккал/моль), ніж для ізоніазиду (Еутв.=60,30 ккал/моль). Треба відмітити, що, хоча азосполука (2.4) і потребує менше енергії для утворення, відсутність N-H-зв'язку не дозволяє їй легко розкладатися на вільні радикали, як у випадку з ізоніазидом. Саме тому, ймовірно, протитуберкульозна активність метазиду значно поступається такій для ізоніазиду.

Фтивазид (3) є більш віддаленою похідною ізоніазиду, в молекулі якого два атоми водню кінцевої аміногрупи заміщені атомом вуглецю з утворенням азометинового зв'язку. Можливу схему його окиснення наведено на рисунку 3. Теоретично, крім розриву N-H-зв'язку, в молекулі фтивазиду також ймовірним є розрив O-H-фрагмента з утворенням фенокисильного радикала (3.4) і гомоліз С-Н-зв'язків, що призводить до утворення вуглецьцентрованих радикалів (3.2) та (3.4). Розрахунки показали, що енергії утворення зазначених радикалів значно відрізняються. Найнижча вона для азотцентрованого радикала (3.1) (Еутв = 66,41 ккал/моль). Для фенокисильного радикала (3.3) ця енергія значно більша (Еутв.=73,47 ккал/моль), а для вуглецьцентрованих радикалів (3.2) та (3.3) зростає до Еутв.=80,6-80,9 ккал/моль.

Стосовно салюзиду, який є близьким структурним аналогом фтивазиду, спостерігається аналогічна залежність (рис. 4). Під впливом карбоксильної групи зростає енергія утворення азометильного радикала (4.2) (Еутв.=83,29

Таблиця 1 – Енергії зв'язування досліджуваних сполук

Сполука	Енергія зв'язування, ккал/м	Сполука	Енергія зв'язування, ккал/м
Ізоніазид (1)	-1771.31	Метазид (2)	-3705.85
Радикал (1.1)	-1698.15	Радикал (2.1)	-3634.61
Радикал (1.3)	-1704.49	Радикал (2.2)	-3633.61
Азосполука (1.4)	-1644.20	Радикал (2.3)	-3639.15
Азорадикал (1.5)	-1583.97	Азосполука (2.4)	-3584.86
Радикал (1.6)	-1385.43	Фтивазид (3)	-3607.92
Альдегід ізонікотинової кислоти (1.7)	-1461.29	Радикал (3.1)	-3541.50
Атом водню	-0.01	Радикал (3.2)	-3527.24
Молекула азоту	-208.44	Радикал (3.3)	-3534.44
Гідразин (6)	-413.81	Радикал (3.4)	-3526.98
Гідразил (6.1)	-342.15	Салюзид (4)	-4251.21
Дифенілпікріл-гідразин (7)	-4580.63	Радикал (4.1)	-4181.82
Дифенілпікріл-гідразил (7.1)	-4515.64	Радикал (4.2)	-4167.92
Фенол (8)	-1419.36	Радикал (4.3)	-4147.77
Феноксил (8.1)	-1342.32	Радикал (4.4)	-4171.96
Іонол (9)	-3941.68	Рифаміцин (5)	-10031.73
Радикал (9.1)	-3866.91	Радикал (5.1)	-9957.21
		Радикал (5.2)	-9959.13
		Радикал (5.3)	-9961.34
		Радикал (5.4)	-9962.99

Таблиця 2 – Розраховані енергії утворення вільних радикалів із нейтральних молекул

Органічний радикал	Енергія утворення радикала, ккал/м	Органічний радикал	Енергія утворення радикала, ккал/м
З ізоніазиду (1)		З рифаміцину (5)	
Радикал (1.1)	73.16	Радикал (5.1)	74.51
Радикал (1.2)	102.30	Радикал (5.2)	72.59
Радикал (1.3)	66.81	Радикал (5.3)	70.38
З метазида (2)		Радикал (5.4)	
Радикал (2.1)	71.23	68.74	
Радикал (2.2)		З гідразину (6)	
72.23		Радикал (6.1)	71.65
Радикал (2.3)		З лейкоосновиДФПГ (7)	
66.69		ДФПГ	
З фтивазиду (3)		Радикал (7.1)	
Радикал (3.1)	66.41	64.99	
Радикал (3.2)	80.67	З фенолу (8)	
Радикал (3.3)	73.47	Радикал (8.1)	77.03
Радикал (3.4)	80.92	З іонолу (9)	
З салюзиду (4)		Радикал (9.1)	74.76
Радикал (4.1)	69.38	Радикал (4.3)	
Радикал (4.2)	83.29	103.44	
		Радикал (4.4)	
		79.25	

ккал/моль). Найбільшої енергії потребує гомоліз О-Н-зв'язку карбоксильної групи, який призводить до утворення радикала (4.3) (Еутв.=03,44 ккал/моль).

Порівнюючи між собою ізоніазид, метазид, фтивазид та салюзид, треба відмітити, що всі вони найлегше утворюють гідразидні радикали саме амідному атому азоту, причому з близькими значеннями Еутв.=66,41-69,38 ккал/моль (табл. 2). Така закономірність дає підставу вважати, що молекулярний механізм протитуберкульозної дії досліджуваних засобів може бути пов'язаним з їх антиоксидними властивостями.

На користь цього припущення свідчить той факт, що інший відомий високоефективний

протитуберкульозний засіб – рифаміцин (5) – проявляє аналогічну антиоксидну дію. Він цікавий тим, що не містить гідразильної групи, яка є спільною для всіх вищезазначених препаратів, але має три гідроксильні групи та одну аміногрупу, спряжені з ароматичним фрагментом. Саме ці групи можуть найлегше окиснюватись, утворюючи відповідні вільні радикали, як показано на рисунку 5.

Розрахунки показали, що гомоліз N-Н-зв'язку з утворенням радикала (5.1) потребує найбільшої енергії (Еутв.=74,51 ккал/моль). Окиснення пара-розташованих гідроксильних груп в ароматичному кільці відбувається дещо легше (5.2) (Еутв.=72,59 ккал/моль) та (5.3)

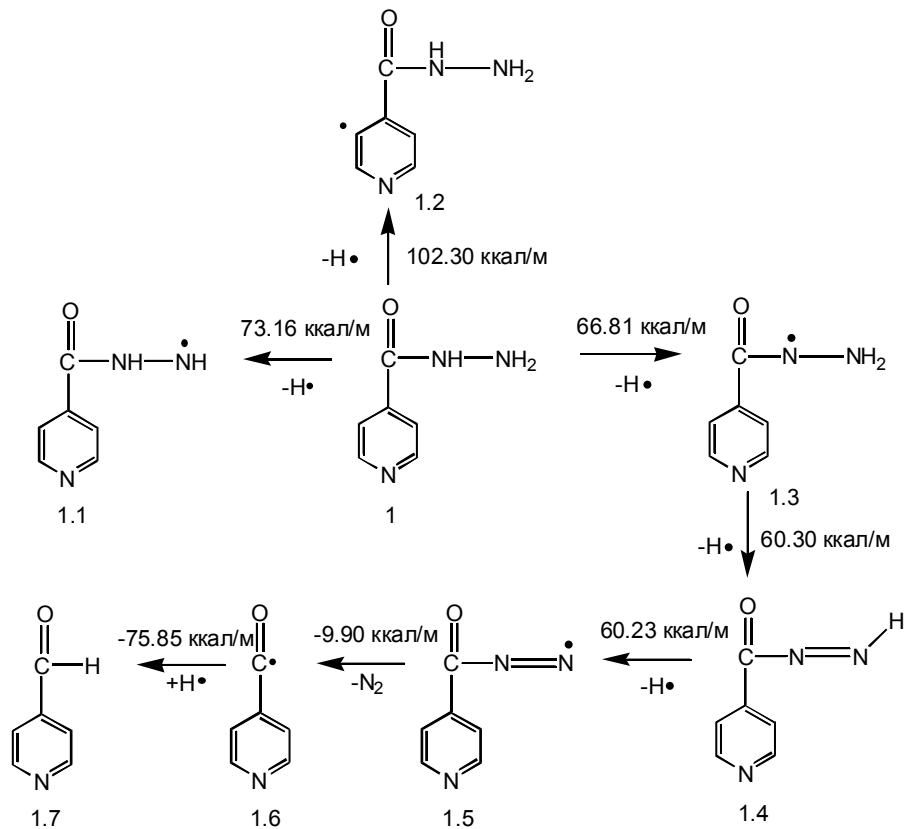


Рис. 1. Схема окиснення ізоніазиду (1).

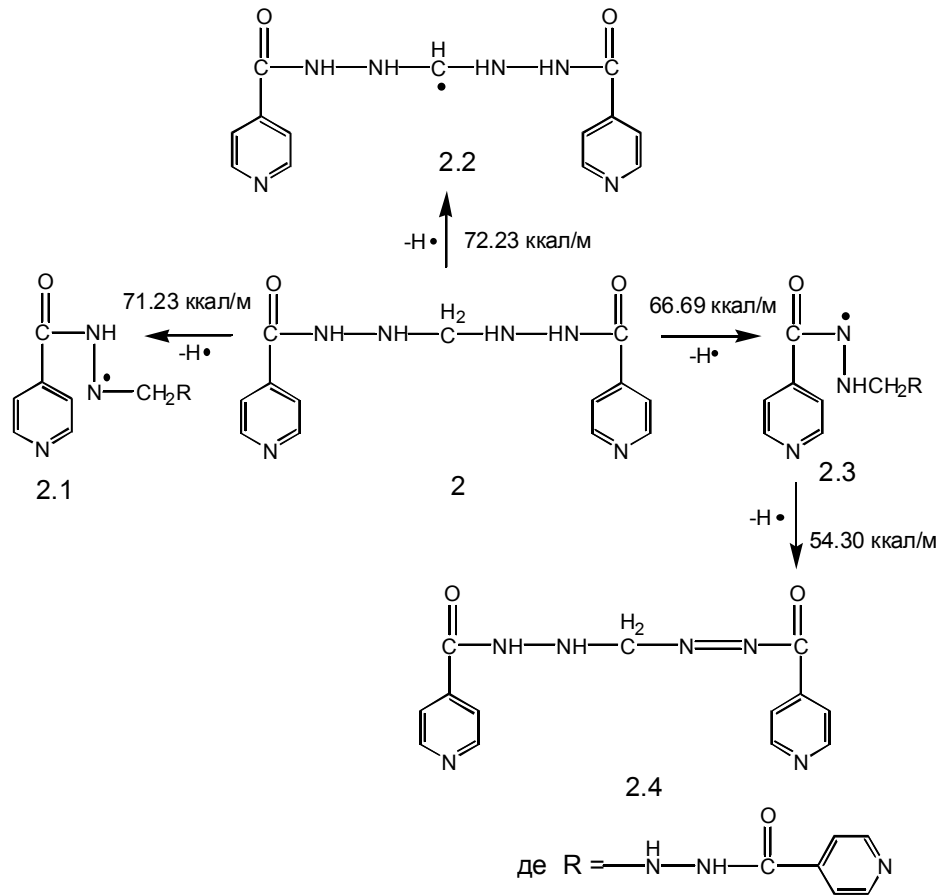


Рис. 2. Схема окиснення метазиду (2).

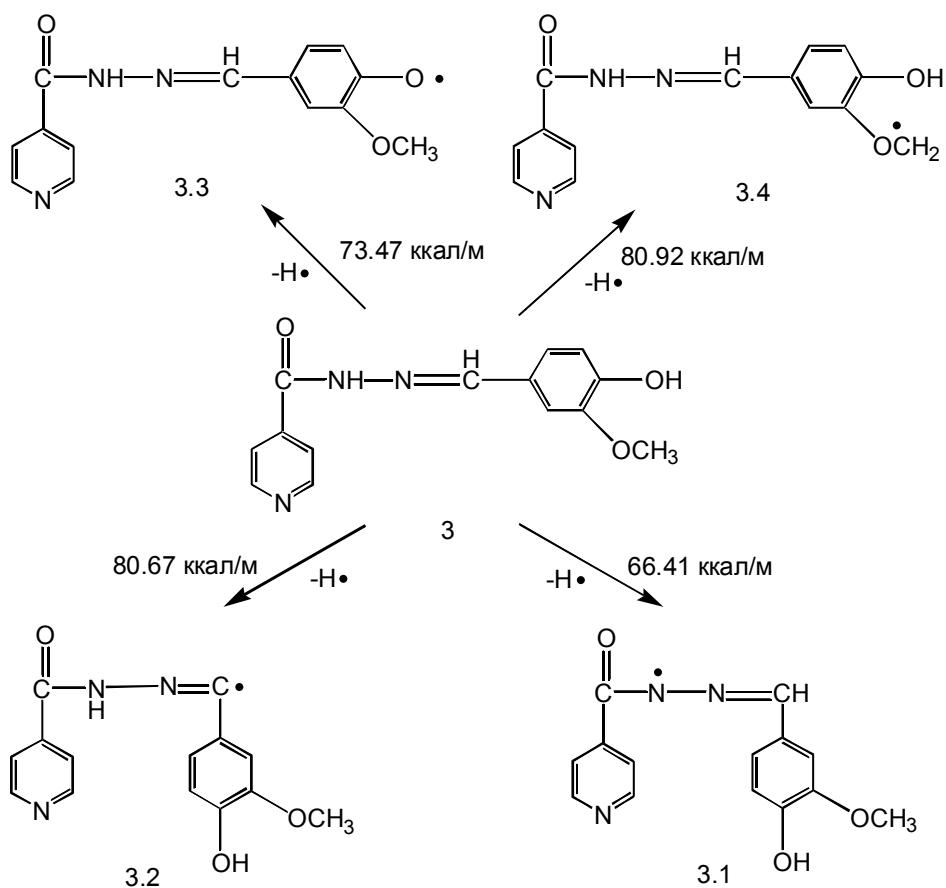


Рис. 3. Схема окиснення фтивазиду (3).

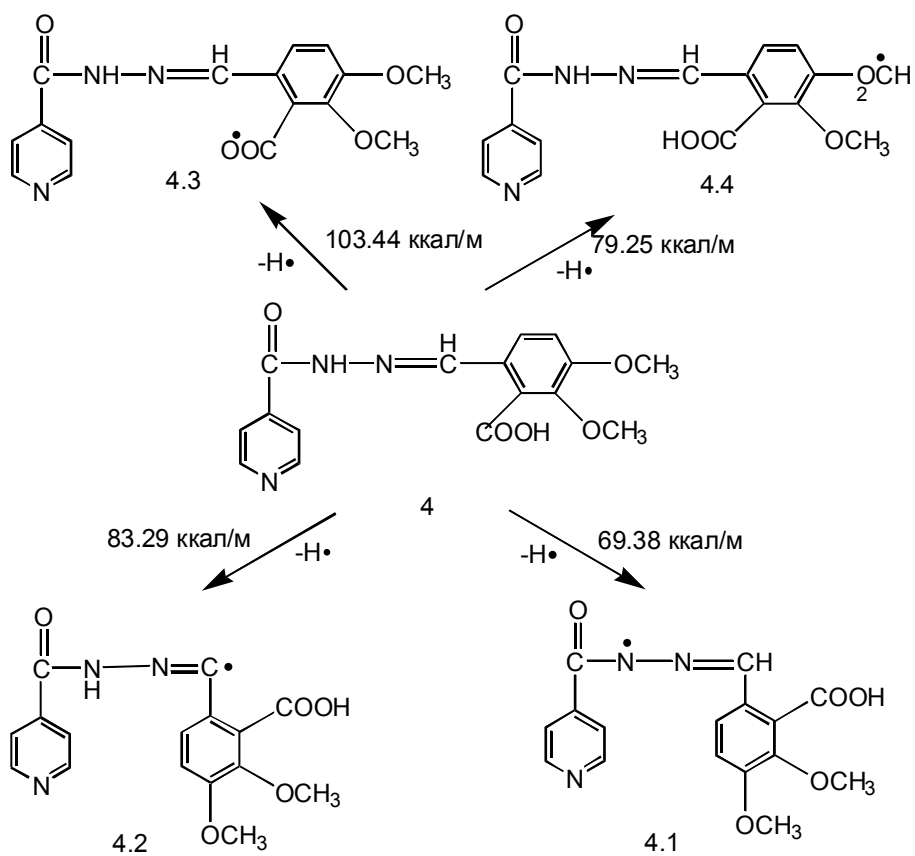


Рис. 4. Схема окиснення салюзиду (4).

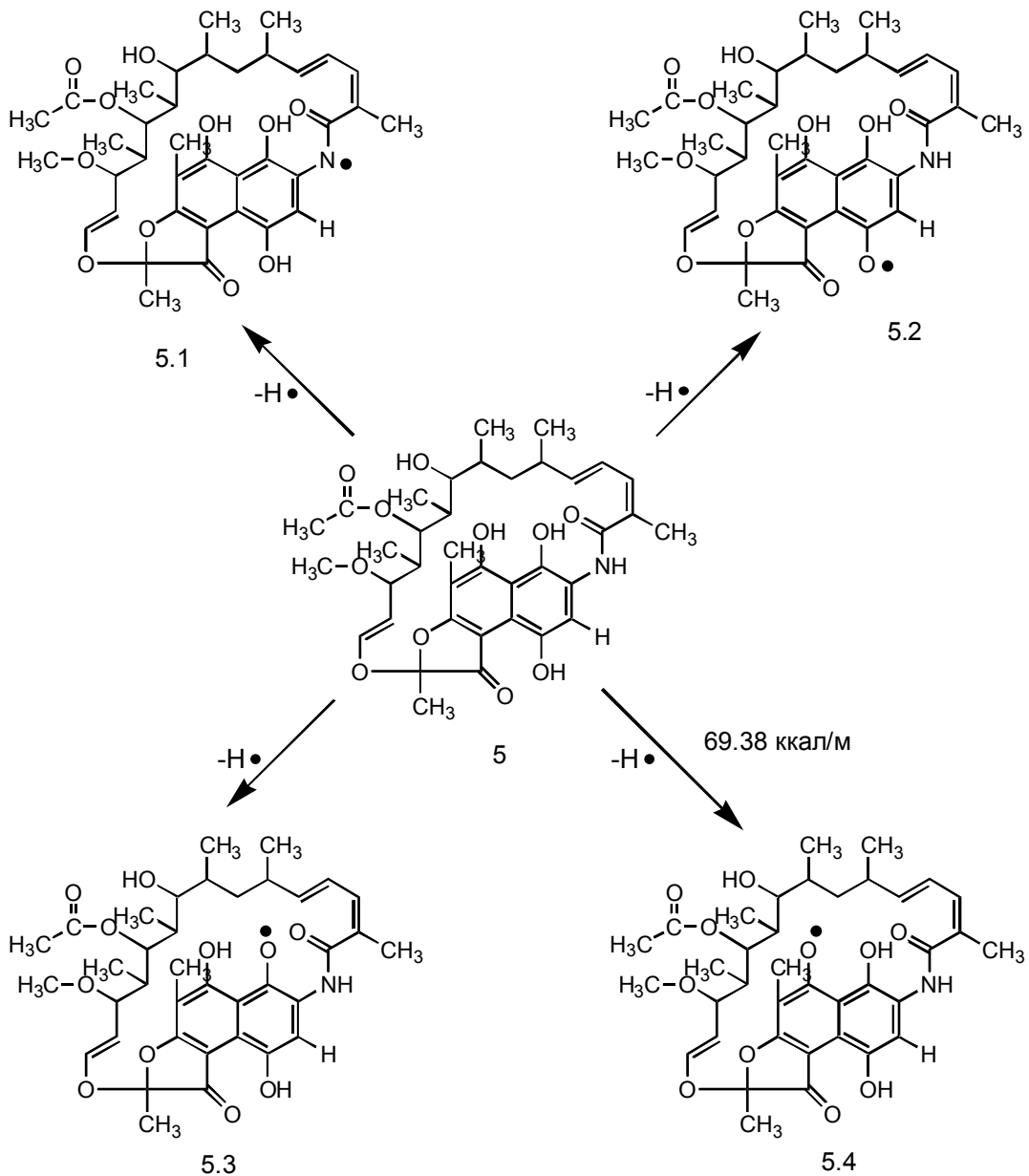


Рис. 5. Схема окиснення рифаміцину (5).

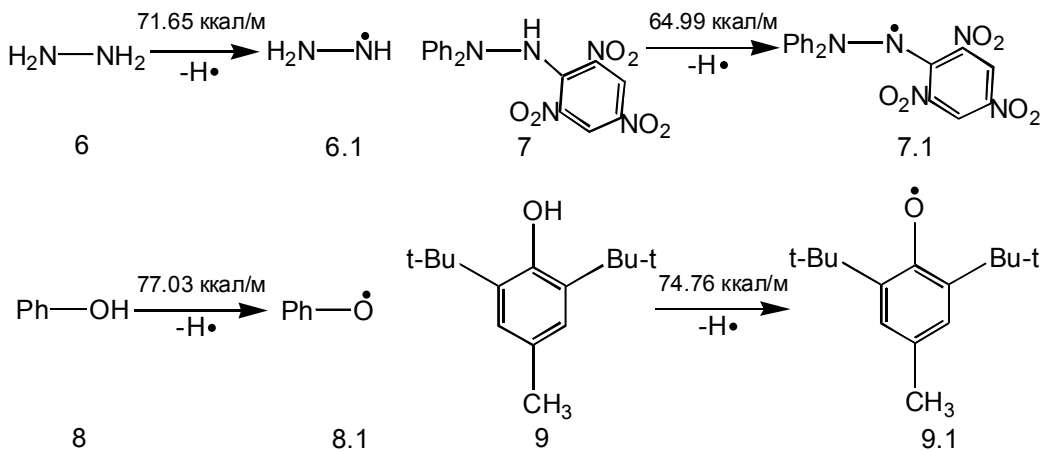


Рис. 6. Схема окиснення відомих антиоксидантів.

(Еутв.=70,38 ккал/моль). Найменшій енергії потребує утворення фенокисьного радикала (5.4) (Еутв.=68,74 ккал/моль). Ця величина точно потрапляє у діапазон утворення гідрозидних радикалів ізоніазиду, фтивазиту та салюзиду (Еутв.=66,41-69,38 ккал/моль).

Щоб краще оцінити рівні отриманих значень енергії утворення радикалів, для порівняння в таблиці 2 наведені аналогічні показники чотирьох широко відомих відновлювачів, які легко утворюють вільні радикали: гідразину (6), лейкооснови дифенілпікрилгідрозилу (ДФПГ) (7), фенолу (8) та іонолу (9).

На рисунку 6 наведено схеми окиснення цих сполук до відповідних вільних радикалів. Розрахунки показали, що гідрозини легше окиснюються, ніж феноли (Еутв.=65,0-71,7 та 77,0-74,8 ккал/моль відповідно). Зокрема, найлегше окиснюється дифенілпікрилгідрозин (7) до стабільного радикала ДФПГ (7.1) (Еутв.=64,99 ккал/моль). Отримана величина є дуже близькою до наведених вище енергій

окиснення протитуберкульозних препаратів (Еутв.=66,41-69,38 ккал/моль). Цей результат свідчить про високу легкість окиснення зазначених засобів і, таким чином, про високу ймовірність такого процесу в організмі. Для порівняння, іонол (9) – відомий антиокиснювач фенольного ряду – потребує 74,76 ккал/моль для утворення досить стабільного і довгоіснуючого фенокисьного радикала (9.1). Така величина значно більша, ніж потрібно для окиснення досліджуваних протитуберкульозних засобів. Тому всіх їх можна з упевненістю віднести до сильних антиокисдантів.

ВИСНОВОК. Молекулярний механізм дії вивчених протитуберкульозних засобів може мати спільний етап – їх окиснення під впливом відповідного ферменту. Подальша роль утворених радикалів, імовірно, полягає в тому, щоб у тій чи іншій формі порушити нормальний метаболізм розвитку мікобактерій туберкульозу.

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 мікобактерій туберкульозу ізоніазидом, вітаміном В₆ та піридоксальфосфатом в досліджах *in vitro*. Зв'язок "структура – активність" з використанням квантово-хімічних розрахунків // Укр. пульмонолог. 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. Фещенко Ю.І., Мельник В.М., Коблянська А.В.

Хіміорезистентний туберкульоз.- К.: Здоров'я, 2003. – 136 с.

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

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

9. 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.

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

11. 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.

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

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ ОКИСЛЕНИЯ ИЗОНИАЗИДА И ДРУГИХ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫХ СРЕДСТВ

Ю.И. Губский, Л.В. Гаевая, 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 энергии окисления известных противотуберкулезных средств – изониазида, метазида, фтивазида, салюзида и рифамицина -к свободным радикалам. Проведено количественное сравнение возможности реализации разных направлений этого процесса. Установлено, что наиболее легко образуются радикалы на атоме азота амидного фрагмента молекулы изониазида и его производных. Все изученные препараты характеризуются близкими и относительно низкими значениями энергии образования радикала с нейтральной молекулы. Высокая антиоксидантная активность этих соединений может свидетельствовать о возможности их действия в организме радикальным механизмом.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **изониазид, метазид, фтивазид, салюзид, рифамицин, радикалы, окисление, квантово-химические расчеты.**

MODELLING OF PROCESSES OF ISONIAZID OXIDATION AND OTHER ANTITUBERCULOSIS DRUGS

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

Summari

With the help of quantum-chemical calculations is determined the oxidation energy of of known antituberculosis means – isoniazid, methazid, phtivazid, saluzid and rifamicin up to free radicals. Quantitative comparison of an opportunity of realization of different directions of this process is carried out. It is established, that nitrogen atom radicals of an amide fragment of a molecule isoniazid and its derivatives are easily formed. All investigated preparations are characterized by close and rather low values of energy of radical formation from a neutral molecule. High antioxidative activity of these compounds can testify to opportunity of their action in the organism by the radical mechanism.

KEY WORDS: **isoniazid, methazid, phtivazid, saluzid, rifamycin, radicals, quantum-chemical calculations.**

Отримано 29.03.2004 р.

Адреса для листування: Л.С. Бобкова, Інститут фармакології та токсикології АМН України, вул. Ежена Потье, 14, Київ, 03057, Україна.

СИНТЕЗ І ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ 3,5-ДИНІТРО- N-ФЕНІЛАНТРАНІЛОВИХ КИСЛОТ

С.Г. Ісаєв, О.Л. Чикіна, Г.П. Жегунова
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Здійснено синтез похідних 3,5-динітро-N-фенілантранілових кислот, вивчено їх фізико-хімічні властивості. Будову синтезованих сполук підтверджено даними елементного аналізу, ПМР-, ІЧ-спектрів. Чистоту контролювали методом тонкошарової хроматографії. Встановлено, що синтезовані речовини проявляють виражену протизапальну, анальгетичну, діуретичну, ранозагоювальну або слабку бактеріостатичну активність. Введення хлору або другої карбоксильної групи в структуру N-фенілантранілових кислот призводить до підвищення протизапальної, анальгетичної та діуретичної активності.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **N-фенілантранілові кислоти, синтез, фармакологічна активність.**

ВСТУП. Проведені раніше дослідження свідчать про різнобічну біологічну активність похідних N-фенілантранілових кислот (N-ФАК) [1, 6, 7]. На основі цього об'єктом досліджень було обрано 3,5-динітро-N-фенілантранілові кислоти.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Сполуки I-XXI синтезовано на кафедрі фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету. 3,5-динітро-N-ФАК одержано (рис. 1) за допомогою двох способів синтезу та їх 7 модифікацій. Перевагами отримання 3,5-динітро-N-ФАК у твердій фазі є: легкість виконання експерименту, скорочення часу здійснення синтезу в 2-3 рази, використання реагентів в еквімолекулярних кількостях, відсутність вогне-небезпечних і токсичних розчинників, продуктів осмолювання, проведення реакції Ульмана в досить широкому температурному режимі, високий вихід цільових продуктів (90-92 %). Будову синтезованих речовин підтверджено шляхом зустрічного синтезу (рис. 1), сучасними фізико-хімічними методами та результатами їх кількісного визначення [8].

Анальгетичну дію вивчали на білих безпородних щурах [4], на моделі гарячої пластини. Досліджувані сполуки вводили внутрішньошлунково в дозі 20 мг/кг. Як препарат порівняння в експерименті було використано анальгін.

Діуретичну дію кожної речовини досліджували на білих щурах за методом Є.Б. Бер-
© С.Г. Ісаєв – к.фарм.н., О.Л. Чикіна, Г.П. Жегунова – к.біол.н., 2004.

хина. Контрольні тварини одержували водне навантаження (1 мл на 20 г маси). Дослідним щурам за 30 хв до водного навантаження вводили внутрішньочеревно досліджувані сполуки в дозі 50 мг/кг у вигляді 5 % водної суспензії. Вивчали діуретичну активність порівняно з гіпотіазидом [2].

Антиексудативну активність вивчали на моделі карагенінового набряку. В білих мишей, викликаного сублантарним введенням у лапку тварини 1 % розчину карагеніну [3, 4, 15]. Вводили 3-5 % водну суспензію, стабілізовану твіном-80, у дозах 20 та 100 мг/кг маси тіла тварини.

Ранозагоювальну активність вивчали на моделі стандартної скарифікованої рани у білих безпородних щурів-самців масою 180-220 г. Тварин було поділено на три групи. Лікування проводили з першого дня моделювання патології. Досліджувані препарати вводили перорально в дозі DE_{50} щодня раз на добу. Щурам 1-ї контрольної групи вводили воду очищену, тваринам 2-ї і 3-ї – вводили сполуки XIX та препарат порівняння [3, 13].

Дослідження бактеріостатичної активності відносно золотистого стафілокока, сінної, кишкової, синьогнійної паличок проводили *in vitro* за методикою двократних серійних розведень у рідкому живильному середовищі [3]. Бактеріостатичну дію вивчали порівняно з етакридину лактатом.

Гостру токсичність синтезованих речовин вивчали на білих мишах при внутрішньошлунковому їх введенні [9]. Середні смертельні дози (DL_{50}) визначали за методом Керберу [2].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Скринінгові дослідження показали, що протизапальну дію (табл. 1, рис. 2а) на рівні мефенамової кислоти проявляли похідні N-ФАК IV, VII, XVII, а анальгетичну активність (табл. 1, рис. 2б) на рівні анальгіну – X, XVII, XVIII. При збільшенні дози з 20 до 100 мг/кг протизапальна активність практично не підвищувалася. Окрема сполуки X, при збільшенні дози протизапальна дія зникала.

Найвища антиексудативна та анальгетична активність спостерігалася у похідних 3,5-динітро-N-ФАК XII, XIII, що, на наш погляд, зумовлено наявністю у структурі ковалентнозв'язаного хлору в неантраніловому фрагменті молекули, а також у сполуки XIX, яка має дві карбоксильні групи, що узгоджується з даними літератури [10, 12-14]. 3,5-Динітро-N-(4'-карбоксифеніл)антранілова кислота (XIX) також проявляла ранозаго-

Таблиця 1 – Біологічна активність 3,5-динітро-N-фенілантранілових кислот

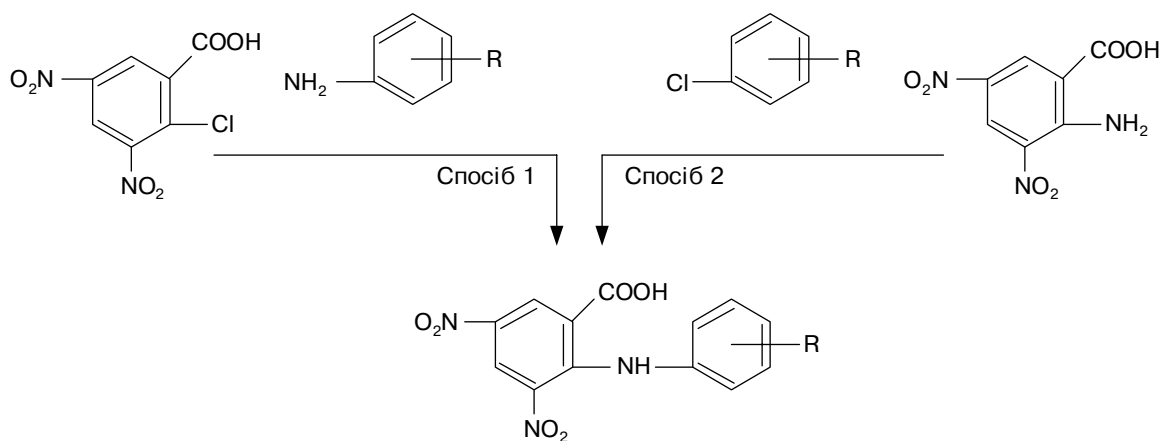
Сполуки	Протизапальна активність, % у дозі			Анальгетична активність, % у дозі (на моделі гарячої пластини)		Діуретична активність, % у дозі 50 мг/мкг	Гостра токсичність (LD ₅₀ , мг/кг внутрішньо-шлунково)
	20 мг/кг	100 мг/кг	DE ₅₀ , мг/кг	20 мг/кг	DE ₅₀ , мг/кг		
I		0		32,3		201,5	>2000
II	0	11,3					
III		0		29,4		254	>2000
IV	26,8	31,3		21,4		183,9	>2000
V	10,3	15,1		0			
VI		0		34,3		200	>2000
VII	34,5	35,4		18,5		211,5	>2000
VIII	9,3	19,4		0			
IX	0			0		150,6	
X	23	0		37,5			>2000
XI	0			0			
XII			10,9		15,9	194,6	>2900
XIII			10,4		14,1	151,8	>2700
XIV	0	0		14,1			
XV	17,4			50,2			
XVI	18,3			42,4			
XVII	33,1			40,4		252,6	>2000
XVIII	35,3			40,6		273,4	>2000
XIX			9,8	11,1		257,2	>3500
XX	0	0					
Вольтарен	37,5 (DE ₅₀ – 8 мг/кг)						363
Мефенамова кислота	30 (у дозі 100 мг/кг)						620/128*
Гіпотіазид						234 (у дозі 50 мг/кг)	74*
Анальгін				55 (у дозі DE ₅₀)			1197
Етакридину лактат							21*

Примітка. * – при внутрішньочеревному введенні.

Таблиця 2 – Ранозагоювальна активність 3,5-динітро-N-(4'-карбоксифеніл)антранілової кислоти (XIX) та диклофенаку натрію

Сполуки	Показники	Доби епітелізації			Доби загоєння
		S	V	A	
XIX	S	43,00±2,91	25,00±2,48*	6,26±1,09	18,00±0
	V	30,20	60,39	90,37	
	A	14,31	34,96	72,28	
Диклофенак натрію	S	55,88±2,53	29,62±0,84	13,58±0,60	20,5±0,63
	V	12,14	53,43	78,65	
	A		4,82		
Контроль	S	49,50±4,15	31,12±4,00	11,86±1,25	21,50±0,63
	V	22,17	51,07	81,35	

Примітка. S – площа, см²; V – швидкість; A – активність;
* – достовірність відмінностей відносно контролю, p<0,05.



- | | | | |
|--|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| I – R=H | II – R=2'-CH ₃ | III – R=3'-CH ₃ | IV – R=4'-CH ₃ |
| V – R=3', 4'-(CH ₃) ₂ | VI – R=2'-OCH ₃ | VII – R=3'-OCH ₃ | VIII – R=4'-OCH ₃ |
| IX – R=2'-Br | X – R=3'-Br | XI – R=4'-Br | XII – R=2'-Cl |
| XIII – R=3'-Cl | XIV – R=4'-Cl | XV – R=3'-I | XVI – R=4'-I |
| XVII – R=2'-COOH | XVIII – R=3'-COOH | XIX – R=4'-COOH | XX – R=2'-Cl |
| XXI – R=4'-NO ₂ | | | |

Рис. 1. Синтез 3,5-динітро-N-фенілантранілових кислот.

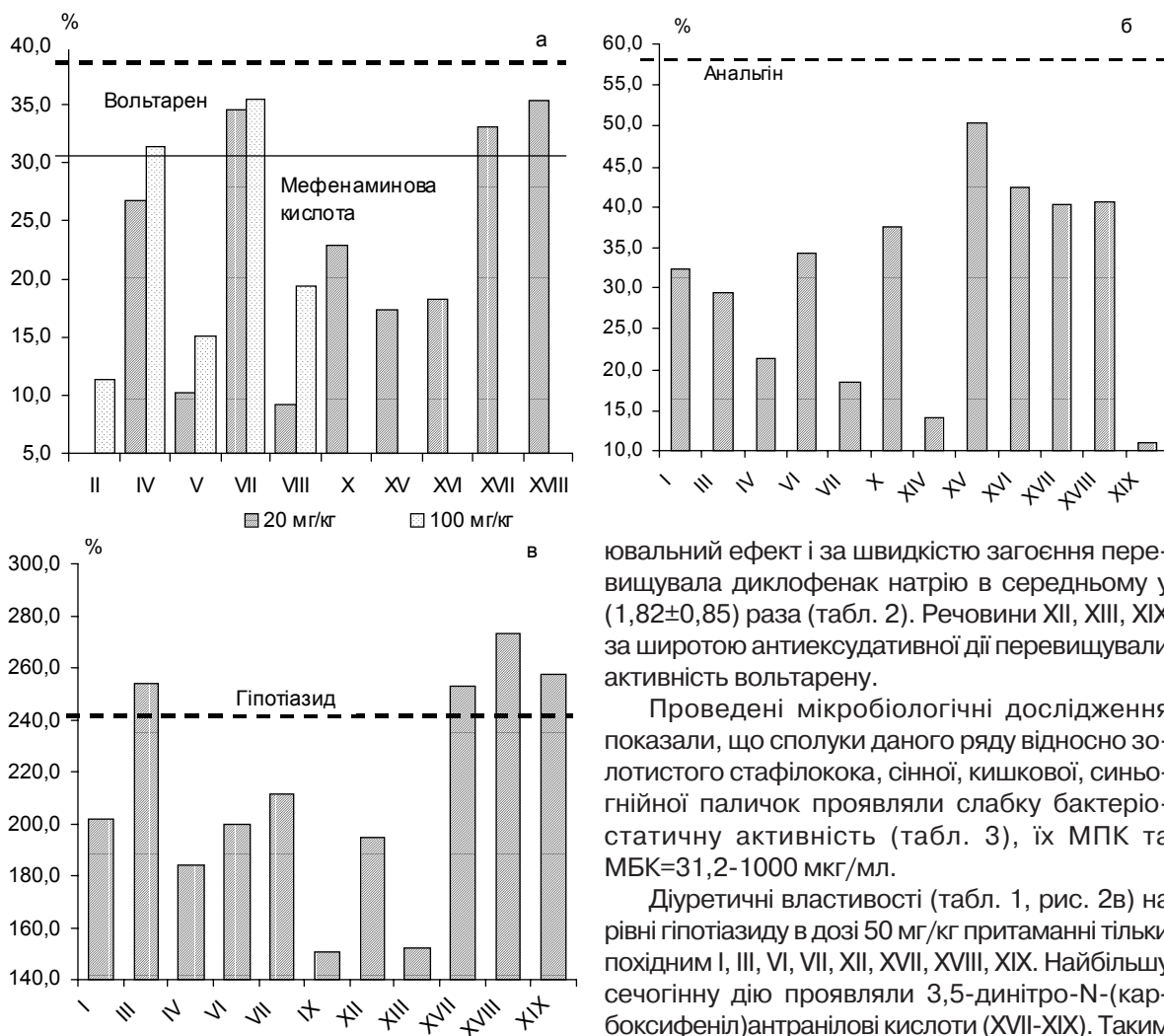


Рис. 2. Протизапальна (а), анальгетична (б), діуретична (в) активність.

ювальний ефект і за швидкістю загоєння перевищувала диклофенак натрію в середньому у (1,82±0,85) раза (табл. 2). Речовини XII, XIII, XIX за широтою антиексудативної дії перевищували активність вольтарену.

Проведені мікробіологічні дослідження показали, що сполуки даного ряду відносно золотистого стафілокока, сінної, кишкової, синьогнійної паличок проявляли слабку бактеріостатичну активність (табл. 3), їх МПК та МБК=31,2-1000 мкг/мл.

Діуретичні властивості (табл. 1, рис. 2в) на рівні гіпотіазиду в дозі 50 мг/кг притаманні тільки похідним I, III, VI, VII, XII, XVII, XVIII, XIX. Найбільшу сечогінну дію проявляли 3,5-динітро-N-(карбоксифеніл)антранілові кислоти (XVII-XIX). Таким чином, показано, що введення до складу N-ФАК другої карбоксильної групи збільшує видільну

Таблиця 3 – Бактеріостатична, бактерицидна активність
3,5-динітро-N-фенілантранілових кислот

Сполуки	Бактеріостатична Бактерицидна активність			
	МПК, мкг/мл			
	1	2	3	4
I	$\frac{1000}{1000}$	$\frac{1000}{0}$	$\frac{1000}{1000}$	$\frac{500}{1000}$
II	$\frac{31,2}{1000}$	$\frac{125}{0}$	$\frac{125}{1000}$	$\frac{250}{1000}$
III	$\frac{500}{1000}$	$\frac{500}{2000}$	$\frac{500}{1000}$	$\frac{250}{1000}$
IV	$\frac{250}{1000}$	$\frac{250}{1000}$	$\frac{250}{1000}$	$\frac{250}{1000}$
V	$\frac{250}{1000}$	$\frac{125}{1000}$	$\frac{125}{1000}$	$\frac{250}{1000}$
VI	$\frac{500}{1000}$	$\frac{250}{0}$	$\frac{500}{2000}$	$\frac{250}{1000}$
VII	$\frac{250}{1000}$	$\frac{125}{2000}$	$\frac{125}{2000}$	$\frac{250}{1000}$
VIII	$\frac{250}{1000}$	$\frac{500}{0}$	$\frac{500}{2000}$	$\frac{250}{1000}$
IX	$\frac{500}{1000}$	$\frac{250}{0}$	$\frac{1000}{1000}$	$\frac{250}{1000}$
Етакридину лактат	31,2	15,6	31,2	62,5

Сполуки	Бактеріостатична Бактерицидна активність			
	МПК, мкг/мл			
	1	2	3	4
X	$\frac{500}{1000}$	$\frac{250}{0}$	$\frac{500}{1000}$	$\frac{250}{1000}$
XI	$\frac{500}{1000}$	$\frac{500}{0}$	$\frac{500}{1000}$	$\frac{500}{1000}$
XII	$\frac{500}{1000}$	$\frac{500}{0}$	$\frac{1000}{1000}$	$\frac{250}{1000}$
XIII	$\frac{500}{1000}$	$\frac{500}{0}$	$\frac{500}{1000}$	$\frac{250}{1000}$
XIV	$\frac{250}{1000}$	$\frac{250}{0}$	$\frac{250}{1000}$	$\frac{250}{1000}$
XV	$\frac{250}{1000}$	$\frac{500}{0}$	$\frac{500}{1000}$	$\frac{250}{1000}$
XVI	$\frac{250}{1000}$	$\frac{500}{0}$	$\frac{500}{1000}$	$\frac{250}{1000}$
XVII	62,5	125	62,5	125
XVIII	62,5	125	62,5	125
XIX	62,5	125	62,5	125
XX	125	125	250	250
Етакридину лактат	31,2	15,6	31,2	62,5

Примітка. Як тест-мікроорганізми використовували: 1 – *Staphylococcus aureus*; 2 – *Bacillus subtilis*; 3 – *Eshrichia coli*; 4 – *Preudomonas aurugiosa*.

функцію нирок. Вивчення гострої токсичності нових сполук при внутрішньошлунковому введенні дало можливість віднести їх до класу помірно токсичних речовин (табл. 1).

ВИСНОВКИ. 1. Розроблено та запатентовано ефективний метод синтезу 3,5-динітро-N-фенілантранілових кислот у твердій фазі з високим виходом та чистотою. Будову синтезованих речовин підтверджено даними елементного аналізу, ІЧ-, ПМР-спектроскопії, ре-

зультатами їх кількісного визначення та шляхом зустрічного синтезу, а індивідуальність – методом тонкошарової хроматографії.

2. За результатами фармакологічних досліджень виявлено сполуки з високою проти-запальною, анальгетичною, діуретичною, рано-загоювальною та слабкою бактеріостатичною активністю. Відзначено деякі закономірності зв'язку структура-протизапальна-анальгетична-діуретична активність серед похідних N-фенілантранілових кислот.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бризицький О.А., Свечнікова О.М., Ісаєв С.Г. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 5-нітро- та 5-амінофенілантранілових кислот // Журн. Органіч. та фармацевт. хімії. – 2003. – 1, № 3/4. – С. 59-64.
2. Гацура В.В. Методи первинного фармакологічного дослідження біологічно активних речовин. – М.: Медицина, 1974. – 143 с.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) // За ред. О.В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
4. Дроговоз С.М., Мохорт Н.А., Зупанец І.А. и др. Методические рекомендации по эксперимен-

тальному (доклінічному) изучению фармакологических веществ, применяемых в качестве нестероидных противовоспалительных средств (издание официальное). – К.: ФКМЗ Україна, 1994. – 40 с.

5. Інформ. лист № 43-2003. Удосканалений спосіб синтезу нітрозаміщених N-фенілантранілових кислот у водному середовищі з використанням гетерогенного каталізатора / С.Г. Ісаєв, О.О. Павлій, О.А. Бризицький та ін. – К., 2003. – Вип. № 2 "Фармація". – 2 с.

6. Інформ. лист № 193-2003. Оптимізація пошуку ефективних лікарських засобів на основі N-фенілантранілових кислот / С.Г. Ісаєв, О.О. Павлій, І.А. Зу-

панець та ін. – К., 2003. – Вип. №13 "Фармація". – 3 с.

7. Исаев С.Г. Синтез, строение и биологическая активность производных орто-хлорбензойной, дифениламин-2-карбоновых кислот и акридина: Автореф. дис...канд. фарм. наук. – Харьков, 1988. – 23 с.

8. Исаев С.Г., Свечникова О.М., Кобзар Н.П. та ін. Кількісний аналіз біологічно активних речовин галогено-, нітро-, сульфамойльних похідних N-фенілантранілових кислот за методом двофазного титрування // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки і практики. – Запоріжжя, 2004. – 3, вип. 12. – С. 48-56.

9. Пастушенко Т.В., Маруший Л.Б., Жуков А.А. и др. Метод определения среднесмертельных доз химических веществ // Гигиена и санитария. – 1985. – № 6. – С. 46-48.

10. Пат. 31293А Україна, МПК С07F13/00. Заміщені 3,5-дихлор-2-N-фенілантранілової кислоти, що проявляють протизапальну та анальгетичну активність / С.Г. Исаев, І.А. Зупанець, О.О. Павлій та ін. (Україна); Заявл. 30.07.98; Опубл. 15.12.2000, Бюл. № 7. – 4 с.

11. Пат. 33114А Україна, МПК С07С205/06, С07С229/58. Спосіб одержання заміщених 3-,4-,5-,

6-нітро-2-N-фенілантранілових кислот / С.Г. Исаев, О.О. Павлій, І.А. Зупанець та ін. (Україна); Заявл. 01.12.98; Опубл. 19.02.01, Бюл. № 1. – 3 с.

12. Пат. 56772А Україна, МПК С07С229/58, А61К31/165. 4-хлор-N-(2'-карбоксіфеніл)антранілово кислота, яка виявляє протизапальну, анальгетичну активність / С.Г. Исаев, І.А. Зупанець, Л.В. Брунь та ін. (Україна); Заявл. 05.09.02; Опубл. 15.05.03. Бюл. № 5. – 4 с.

13. Пат. 57492А Україна, МПК С07С229/58, А61К31/165. Нітро- та хлорзаміщені N-(карбоксіфеніл)антранілової кислоти, що виявляють протизапальну, репаративну та анальгетичну активність / І.А. Зупанець, С.Г. Исаев, Л.В. Брунь та ін. (Україна); Заявл. 31.10.02; Опубл. 16.06.03, Бюл. № 6. – 4 с.

14. Ткач А.О. Синтез, будова і біологічна активність похідних о-хлор(гідразино)бензойних, N-R-антранілових кислот та акридину: Автореф. дис. ...канд. фарм. наук. – Харків, 1999. – 19 с.

15. Яковлева Л.В., Зупанець І.А. Использование модели каррагенинового отека у мышей при поиске противовоспалительных средств. – Х., 1987. – 6 с. – Деп. в Укр. НИИНТИ 07.07.87, № 1908 – Ук – 87.

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ 3,5-ДИНИТРО-N-ФЕНИЛАНТРАНИЛОВЫХ КИСЛОТ

С.Г. Исаев, Е.Л. Чикина, Г.П. Жегунова
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Осуществлен синтез производных 3,5-динитро-N-фенілантранілових кислот, изучено их физико-химические свойства. Строение синтезированных соединений подтверждено данными элементного анализа, ПМР-, ИК-спектров. Чистоту контролировали методом тонкослойной хроматографии. Установлено, что синтезированные вещества проявляют выраженную противовоспалительную, анальгетическую, диуретическую, ранозаживляющую или слабую бактериостатическую активность. Введение хлора или второй карбоксильной группы в структуру N-фенілантранілових кислот приводит к повышению противовоспалительной, анальгетической и диуретической активности.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: N-фенілантраніловые кислоты, синтез, фармакологическая активность.

SYNTHESIS AND RESEARCH OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF 3,5-DINITRO-N-PHENYLANTHRANILIC ACIDS

S.G. Isayev, L.L. Chykina, G.P. Zhegunova
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

Summary

Synthesis of derivatives of 3,5-dinitro-N-phenylanthranilic acids has been performed and their physical and chemical properties have been studied. The structure of synthesized compounds has been confirmed by data of element analysis, PMR-, IR-spectra. The purity has been tested by the method of thin-layer chromatography. It has been determined the antiinflammatory, analgetical, diuretic, healing, bacteriostatic activity of the synthesized compounds. It was established that introduction of chlor or second carboxil group into the structure of N-phenylanthranilic acids results in the increasing of antiinflammatory, analgetical and diuretic activity.

KEY WORDS: N-phenylanthranilic acids, synthesis, pharmacological activity.

Отримано 18.05.2004 р.

Адреса для листування: О.Л. Чикина, вул. Гарібальді, 11а, кв. 21, Харків, 61142, Україна.

ВИВЧЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У ТРАВІ РОЗТОРОПШІ ПЛЯМИСТОЇ

Г.С. Болоховець, В.С. Кисличенко

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

У статті представлено методики визначення якісного складу та кількісного вмісту таких класів фенольних сполук, як гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, дубильні речовини, прості феноли (арбутин) в траві розторопші плямистої. Проведено статистичну обробку отриманих результатів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: розторопша плямиста, трава, кількісне визначення, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, дубильні речовини, арбутин.

ВСТУП. Розвиток хімії природних сполук останнім часом викликає підвищену зацікавленість вивченням фенольних сполук з огляду на їх фармакологічні властивості та застосування у медичній практиці.

Відомо, що частка фенольних сполук складає 30 % від усієї біомаси, яка утворюється на Землі. З них у флавоноїди перетворюється до 2 % вуглецю, який засвоюється рослинами, що становить понад 1 млрд тонн продуктів біосинтезу [5]. Вивчення фенольних сполук різноманітних видів рослин спонукало до створення багатьох лікарських препаратів, які використовуються для лікування серцево-судинної системи, шлунково-кишкового тракту та печінки [7].

Як лікарську рослинну сировину для вивчення фенольних сполук було обрано розторопшу плямисту (*Silybum marianum* Gaertn.), яка здавна використовується у народній медицині при запаленнях кишково-шлункового тракту, жіночої статеві системи [9]. Відомо також успішне застосування цієї рослини при лікуванні колітів, хвороб селезінки, щитоподібної залози, при відкладеннях солей, набряках, водянці, ожирінні, радикуліті, болю у суглобах, алергічних захворюваннях. Окремо трава розторопші плямистої має гепатопротекторну, уролітичну, сечогінну, слабку жовчогінну дію та проявляє антиоксидну активність, яку, за даними літератури, зумовлюють діючі речовини трави розторопші плямистої – фенольні сполуки [8,9, 10].

© Г.С. Болоховець, В.С. Кисличенко – д.фарм.н., проф., 2004.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Метою нашого дослідження було вивчення якісного складу та кількісного вмісту деяких класів фенольних сполук у траві розторопші плямистої. Для цього використовували траву розторопші плямистої, яку було заготовлено у серпні 2002 року в Харківській та Донецькій областях.

Якісний склад фенольних сполук трави розторопші плямистої вивчали за допомогою загальновідомих якісних реакцій та хроматографічних методів аналізу. В результаті дослідження було встановлено наявність флавоноїдів, простих фенолів, дубильних речовин, гідроксикоричних кислот.

Для отримання комплексу фенольних сполук сировину попередньо вичерпно екстрагували хлороформом у апараті Сосклета для очищення від ліпофільних речовин. Знежирену сировину сушили до видалення залишку хлороформу. Суху знежирену сировину екстрагували у колбі з відповідним екстрагентом (гаряча вода або 70 % етанол) у співвідношенні сировина – екстрагент 1:10 при нагріванні на киплячій водяній бані протягом 30 хв, цю операцію повторювали тричі. Отримані екстракти об'єднували, випарювали у вакуумі до повного видалення розчинників та одержання сухих екстрактів.

Фенольний склад трави розторопші плямистої вивчали за допомогою двомірної хроматографії на папері. Хроматографією проводили у системах: 15 % оцтова кислота, бутанол – оцтова кислота – вода (4:1:2). Після хроматографії речовини аналізували до та після обробки хроматограми різноманітними проявниками.

Для цього використовували розчин концентрованого аміаку, 1 % розчин лугу та 5 % розчин заліза хлориду (III). Таким чином, було встановлено, що в екстракті трави розторопші плямистої міститься не менше 11 речовин фенольної природи. Плями, позначені нами 1, 2, мали жовту флуоресценцію та були віднесені до флавоноїдних агліконів, плями 3, 4, 5, 6 – темну і були віднесені до флавоноїдів та флавоноїдних глікозидів, плями 7, 8, 9 – блакитну, плями 10, 11 – фіолетову і були віднесені нами до гідроксикоричних кислот (рис. 1).

Розділення та виявлення гідроксикоричних кислот в екстракті з трави розторопші плямистої проводили за допомогою одновимірної висхідної хроматографії на папері порівняно з достовірними зразками. З метою вибору оптимальних умов для розділення гідроксикоричних кислот хроматографією виконували в так системах розчинників: 2 % оцтова кислота, 15 % оцтова кислота, бутанол – оцтова кислота – вода (4:1:2). Наявність гідроксикоричних кислот на хроматограмі підтверджували в УФ-світлі та після обробки хроматограми парами концентрованого розчину аміаку. Результати флуоресцентного аналізу в УФ-світлі наведено у таблиці 1.

Таким чином, було ідентифіковано хлорогенову, кофейну та фумарову кислоти.

Визначення вмісту гідроксикоричних кислот проводили за допомогою спектрофотометричного методу в перерахунку на хлорогенову кислоту [3]. Результати визначення наведено у таблиці 2.

Хроматографією на папері у системі хлороформ – оцтова кислота – вода (13:6:1), порівняно з достовірними зразками, було встановлено наявність кверцетину та кемпферолу трави розторопші плямистої.

Таблиця 1 – Результати флуоресцентного аналізу гідроксикоричних кислот трави розторопші плямистої в УФ-світлі

Досліджувана сировина	Флуоресценція в УФ-світлі											
	хлорогенова		неохлорогенова		ферулова		кумарова		кофейна		фумарова	
Трава розторопші плямистої	блакитна	зелено-блакитна	-	-	-	-	-	-	блакитна	світло-блакитна	фіолетова	яскраво-фіолетова

Таблиця 2 – Метрологічна характеристика середнього результату визначення вмісту гідроксикоричних кислот у траві розторопші плямистої

m	v	X _i	X _{сер}	S ²	S _{сер}	P	T (P, v)	Довірчий інтервал	ε _г , %
1	2		3	4	5	6	7	8	9
5	4	1,342	1,3428	0,000004700	0,0009695	0,95	2,78	1,3430±0,0027	0,20072
		1,345							
		1,342							
		1,340							
		1,345							

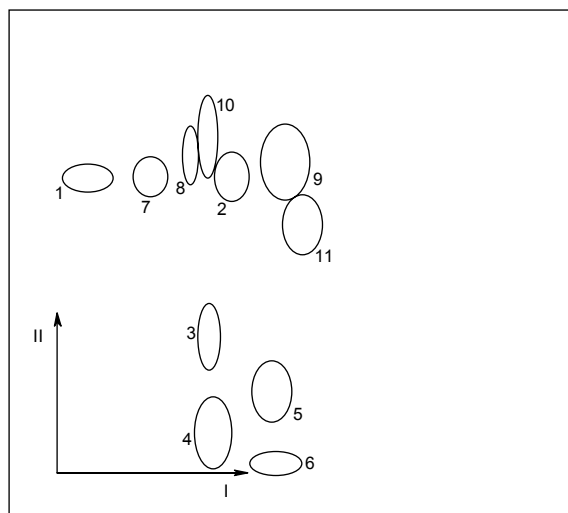


Рис. 1. Схема двовірної хроматограми водно-спиртового екстракту з трави розторопші плямистої.

I напрямок – бутанол-оцтова кислота – вода (4:1:2)
II напрямок – 15 % оцтова кислота

Кількісне визначення флавоноїдів проводили спектрофотометричним методом у перерахунку на рутин [4]. Результати визначення представлено у таблиці 3.

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

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

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

де V – об'єм розчину перманганату калію (0,02 моль/л), витраченого на титрування екстракту, мл; V₁ – об'єм розчину перманганату калію (0,02 моль/л), витраченого на титрування контрольного дослідження, мл; m – маса сировини, г; 0,004157 – кількість дубильних речовин, що відповідає 1 мл розчину перманганату калію

(0,02 моль/л) у перерахунку на танін, г; 250 – загальний об'єм екстракту, мл; 25 – об'єм екстракту, взятого для титрування, мл; W – втрата у масі при висушуванні сировини.

Результати визначення кількісного вмісту дубильних речовин представлено у таблиці 4.

Оскільки якісними реакціями встановлено наявність простих фенолів, доцільно було встановити кількісний вміст арбутину за такою методикою. Близько 0,5 г (точна наважка) подрібненої трави сировини вміщували у колбу місткістю 100 мл, додавали 50 мл води і нагрівали на водяній бані. Гарячу витяжку фільтрували у мірну колбу місткістю 100 мл через паперовий фільтр. До сировини повторно додавали 25 мл води і кип'ятили 25 хв. Гарячу витяжку з сировиною переносили на той же фільтр і два рази промивали водою (по 10 мл). До фільтрату додавали 3 мл розчину основного ацетату свинцю, перемішували і після охолодження доводили водою до позначки. Колбу нагрівали на водяній бані до повної коагуляції осаду. Гарячу рідину повністю відфільтровували у суху колбу через паперовий фільтр. Після охолодження до фільтрату додавали 1 мл концентрованої сірчаної кислоти, колбу зважували, приєднували до зворотного холодильника і нагрівали протягом 1,5 години.

Таблиця 3 – Метрологічна характеристика середнього результату визначення вмісту флавоноїдів у траві розторопші плямистої

m	v	X _i	X _{сеп}	S ²	S _{сеп}	P	t (P, v)	Довірчий інтервал	ε _± , %
1	2		3	4	5	6	7	8	9
5	4	0,279	0,28	0,000002500	0,0007071	0,95	2,78	0,28±0,00197	0,70206
		0,281							
		0,282							
		0,278							
		0,280							

Таблиця 4 – Метрологічна характеристика середнього результату визначення вмісту дубильних речовин у траві розторопші плямистої

m	v	X _i	X _{сеп}	S ²	S _{сеп}	P	t (P, v)	Довірчий інтервал	ε _± , %
1	2		3	4	5	6	7	8	9
5	4	6,723	6,7174	0,000096300	0,0043886	0,95	2,78	6,7170±0,0122	0,18162
		6,712							
		6,709							
		6,732							
		6,711							

Таблиця 5 – Метрологічна характеристика середнього результату визначення вмісту арбутину в траві розторопші плямистої

m	v	X _i	X _{сеп}	S ²	S _{сеп}	P	t (P, v)	Довірчий інтервал	ε _± , %
1	2		3	4	5	6	7	8	9
5	4	0,371	0,3706	0,0000013	0,0005099	0,95	2,78	0,37100±0,00142	0,3825
		0,369							
		0,372							
		0,370							
		0,371							

Колбу охолоджували, доводили до попередньої маси водою і рідину повністю відфільтровували через паперовий фільтр. До фільтрату додавали 0,1 г цинкового пилу і збовтували протягом 5 хвилин. Потім рідину відфільтровували у суху колбу.

У пробірку додавали 2 мл 0,08 % сульфацилу натрію, 2 мл розчину нітриту натрію. Через 3 хв додавали 0,4-0,5 мл витяжки та 0,04 мл розчину гідроксиду натрію і доводили водою до 6 мл.

Пробірку з розчином нагрівали на водяній бані протягом 1 хв. Через 20 хв вимірювали оптичну густину розчину на фотоколориметрі КФК-24ХЛ42 при довжині хвилі 490 нм. Як розчин порівняння використовували воду очищену.

Вміст арбутину обчислювали за формулою:

$$X = \frac{D \cdot 0,938 \cdot 6 \cdot 100}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \cdot a \cdot b}$$

де D – оптична густина досліджуваного розчину; 0,938 – коефіцієнт перерахунку на безводний арбутин; 6 – загальний об'єм досліджуваного розчину; 100 – об'єм мірної колби; E_{1 см}^{1%} – питомий показник поглинання арбутину при довжині хвилі 410 нм; a – наважка сировини; b – об'єм витяжки, яку використовували для аналізу [6].

Статистичну обробку результатів дослідження проводили згідно з Державною фармакопеею України [2].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати якісного дослідження гідроксикоричних кислот та кількісний вмісту декількох класів фенольних сполук представлено в таблицях 1-5. Було ідентифіковано хлорогенову, кофейну та фумарову кислоти і визначено загальний вміст гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту, який складає 1,34 % (табл. 1-2).

За допомогою паперової хроматографії, порівняно з достовірними зразками, вдалося встановити наявність аглікони флавоноїдів – кверцетину та кемпферолу – в траві розторопші плямистої. Вміст флавоноїдів у траві розторопші плямистої становить 0,28 % (табл. 3). Це досить незначний кількісний показник для такого виду лікарської рослинної сировини, як трава.

Також визначено кількісний вміст дубильних речовин у траві розторопші плямистої, який становить 6,72 % (табл. 4). За методом Левенталія визначали вміст не тільки власне дубильних речовин, але й усіх окиснюваних сполук, що містяться у рослинній сировині. При застосуванні нами інших методів (комплексометричного та гравіметричного) не вдалося досягти статистичної відтворюваності результатів. Тому використаний нами відомий метод визначення рівня дубильних речовин дає певне уявлення про їх кількісний вміст у досліджуваному об'єкті.

Вміст арбутину в траві розторопші плямистої становить 0,37 % (табл. 5).

Запропонована методика визначення рівня арбутину в траві розторопші плямистої дає можливість досить об'єктивно встановити його кількісний вміст, тому що на попередніх етапах у рослинній сировині були присутні фенольні сполуки (гідроксикоричні кислоти, флавоноїди та дубильні речовини), які складають досить стійкий фон при фотоколориметричному визначенні, висаджуються за допомогою основного ацетату свинцю.

ВИСНОВКИ. За допомогою паперової хроматографії було встановлено наявність не менше 11 сполук фенольної природи в спиртоводневому екстракті трави розторопші плямистої.

1. Порівняно з достовірними зразками було ідентифіковано три гідроксикоричні кислоти: хлорогенову, фумарову та кавову, а також два аглікони флавоноїдів: кверцетин та кемпферол.

2. У траві розторопші плямистої було визначено кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту; флавоноїдів у перерахунку на рутин, дубильних речовин та арбутину, що за класифікацією належить до простих фенолів.

3. Отримані результати з визначення вмісту фенольних сполук у траві розторопші плямистої будуть використані при розробці аналітичної нормативної документації на вказану сировину.

ЛІТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея СССР. -11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1987. – Вып. 1: Общие методы анализа / МЗ СССР. – 336 с.

2. Державна фармакопея України. – Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-ше вид. – Харків: PIPEГ, 2001. – С.67.

3. Кисличенко В.С. Фармакогностичне вивчення представників родини агрусові, бруслинні, ранникові і розробка на їх основі лікарських засобів: Автореф. дис. ... д-ра. фарм. наук. – Харків, 1999. – 34 с.

4. Криворучко О.В., Кисличенко В.С., Ткаченко О.Ю. Кількісне визначення флавоноїдів і полісахаридів у листі чорної смородини, яка культивується в різних областях України // Фарм. журн. – 1999. – № 5. – С. 89-90.

5. Литвиненко В.И. Природные флавоноиды.- Харьков, 1995. – 56 с.

6. Новосел О.М., Кисличенко В.С. Визначення кількісного вмісту фенольних сполук в листі яблуні лісової та груші звичайної // КМАПО. – К., 2003. – Вип. 12, кн. 2. – С. 811-818.

7. Bisset N.G. Herbal drugs and phytopharmaceuticals. Boca Raton, FL, CRC Press. – 1994.

8. Blaschek W., eds. Hagers Handbuch der pharmaceutischen Praxis. Folgebund 2: Drogen A-K – 5th ed. – Berlin: Springer-Verlag, 1998.

9. Morazzoni P., Bombardelli E. Silybum marianum // Fitoterapia. – 1995. – 63, № 3. – P. 42.

10. Wagner H., Bradt S. Plant drug analysis. – 2nd ed. – Berlin: Springer-Verlag, 1995.

ИЗУЧЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ТРАВЕ РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ

А.С. Болоховец, В.С.Кисличенко
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

В статье представлены методики определения качественного состава и количественного содержания таких классов природных соединений, как гидроксикоричные кислоты, флавоноиды, дубильные вещества, простые фенолы (арбутин) в траве расторопши пятнистой. Проведена статистическая обработка полученных результатов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: расторопша пятнистая, трава, количественное определение, гидрокси-коричные кислоты, флавоноиды, дубильные вещества, арбутин.

THE STUDY OF PHENOLIC COMPOUNDS IN GRASS OF MILK THISTLE

H.S. Bolokhovets, V.S. Kyslychenko
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

Summary

The article presents the methods of determination of qualitative composition and quantitative contents of such phenolic compounds as hydroxycinnamic acids, flavonoids, tannic substances, simple phenols (ursine) in grass of Milk thistle. The statistical analysis of the obtained results has been carried out.

KEY WORDS: Milk thistle, grass, quantitative determination, hydroxycinnamic acids, flavonoids, tannic substances, ursine.

Отримано 06.08.2004 р.

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

**Для отримання оперативної інформації звертайтеся
до нашої сторінки в Інтернеті:
www.tdmu.edu.te.ua**

ФАРМАКОКІНЕТИКА НОВОГО НЕОПІЇДНОГО АНАЛЬГЕТИКА ПІРОДАЗОЛУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

О.К. Ярош, Ф.П. Трінус, Т.А. Бухтіарова, О.Є. Ядловський,
Т.В. Шатиркіна, А.П. Ніколаєва, В.С. Хоменко, З.П. Омеляненко
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ І ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, КИЇВ

Методом високоефективної рідинної хроматографії та радіоактивної індикації вивчено фармакокінетику нового неопіїдного анальгетика піродазола. З'ясовано, що анальгетик швидко всмоктується із шлунково-кишкового тракту $AUC/C_{max} = 0,82 \text{ год}^{-1}$, інтенсивно розподіляється по органах і тканинах організму $V_{ss} = 253,46 \text{ л/кг}$, та швидко елімінує $T_{1/2} = 0,82 \text{ год}$ $Cl = 187,77 \text{ л/(кг·год)}$. Показано низький концентраційний рівень піродазолу, що, можливо, пов'язано з його руйнуванням у шлунково-кишковому тракті та/чи метаболізмом.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: фармакокінетика, анальгетик, піродазол.

ВСТУП. Больові синдроми є одними з найбільш розповсюджених і часто призводять до втрати працездатності, інвалідизації, що зумовлює значні економічні витрати. Так, у США економічні витрати, пов'язані з болем, сягають до 90 млрд доларів на рік [8]. Тому фармакологічна регуляція болю є однією з найактуальніших проблем сучасної медицини. На сьогодні немає анальгетика, який би оптимально задовольняв потреби клініки. Тому в наукових центрах медичного профілю ведеться активний пошук нових анальгетиків, які за безпекою та/чи ефективністю мали б перевагу над існуючими, а також вивчають особливості їх фармакодинаміки та фармакокінетики [7, 15]. В останні роки увагу дослідників привертають до себе азотисті гетероцикли. Так, у медичну практику було впроваджено кеторолак та пемедолак, у хімічній структурі яких містяться пірольне та імідазолне кільця. В Інституті фармакології та токсикології АМН України проводять комплексні дослідження із створення нового неопіїдного анальгетика піродазолу (похідна піролоімідазолу), який в експерименті не поступається кеторолаку, а на деяких моделях ноцицептивної стимуляції – морфіну гідрохлориду.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експеримент проведено на щурах-самцях лінії Вістар масою

© О.К. Ярош, Ф.П. Трінус, Т.А. Бухтіарова – д.мед.н., О.Є. Ядловський – к.біол.н., Т.В. Шатиркіна – к.мед.н., А.П. Ніколаєва, В.С. Хоменко – к.мед.н., З.П. Омеляненко – к.мед.н., 2004.

200-250 г, розведених у віварії Інституту фармакології та токсикології АМН України, відповідно до вимог ДФЦ МОЗ України. В експериментах використовували: субстанцію піродазолу для перорального введення у дозі 1/10 ЛД₅₀ (31,5 мг/кг), ін'єкційну форму препарату для внутрішньовенного введення – 3/10 ЛД₅₀ (3,9 мг/кг), а також піродазол, мічений за тритієм у невизначеному положенні (НЗ-піродазол), отриманий з Інституту ядерних досліджень НАН України, – 1/10 ЛД₅₀ (31,5 мг/кг). Речовини вводили у вигляді водно-спиртової емульсії (95 % спирт етиловий ректифікат – 5 %, твін-20 – 5 %, вода дистильована – 90 %). Фармакокінетичні дослідження проводили згідно з методичними рекомендаціями [4]. Кров відбирали при пероральному введенні піродазолу через 3, 10, 15, 30, 60, 120, 240 та 360 хв, за внутрішньовенного введення через 2, 5, 10 та 20 хв, при введенні НЗ-піродазолу через 0,5, 1, 2, 4, 8, 24 та 48 год. Визначення радіоактивності проводили методом [5] з використанням методичних рекомендацій [11]. Фармакокінетику НЗ-піродазолу вивчали із застосуванням методу радіоактивної індикації. Для дотримання ефективних доз до радіоактивного анальгетика додавали нерадіоактивний. Щурів наркотизували внутрішньочеревно з розрахунку 40 мг на 100 г маси тіла. Кров по 0,5 мл брали через 0,5; 1, 2, 4, 8, 24 та 48 год. Проби крові поміщали у віали, які містили по 0,5 мл 2М КОН, і піддавали гідролізу при температурі 40 °С протягом 24 год. Потім кров

освітлювали 1 мл бензоїлу на діоксані. Сечу та кал солубілізували аналогічним чином. Визначення радіоактивності сечі проводили в окремих дослідах. Щурі отримували препарат один раз на добу до введення дослідної речовини з розрахунку 5 мл на 100 г маси тіла тварини. Потім щурів поміщали в індивідуальні клітки і збирали сечу в градуйований посуд у різні строки експерименту: через 0,5, 2, 4, 24 та 48 год після введення. Визначали об'єм сечі, виділеної за окремий проміжок часу, та її радіоактивність. Аліквоти гідролізатів (0,2 мл крові, 0,1 мл сечі, калу) нейтралізували оцтовою кислотою, вносячи їх у віали з радіаційним сцинтилятором, моноетиловим ефіром етиленгліколю, етанолом та через 10-12 год піддавали радіометрії на рідинному сцинтиляційному лічильнику "ЛКБ-Прилади" (Швеція). Результати виражали у мкг/мл для крові та сечі.

Піродазол визначали методом ВЕРХ з УФ-детекцією (хроматограф PERKIN-ELMER 200 (США)). Для цього кров центрифугували 10 хв при 7000 об/хв, відбирали сироватку, додавали спирт етиловий і доводили до кипіння на водяній бані, осаджуючи білки. Потім центрифугат охолоджували до кімнатної температури і знову центрифугували 10 хв при 7000 об./хв для осадження твердих частинок, а надосадову рідину переносили у віали з метою хроматографування. Аналітичне визначення концентрації піродазолу в сироватці крові здійснювали за допомогою методу ВЕРХ у поєднанні з УФ-детекцією. Хроматографічний аналіз проводили на зворотногоазовій колонці (X Terra RP18, 250×3 mm ID, 5 micron), використовуючи ацетонофосфатний буфер (рН=2,5) у як рухому фазу із швидкістю 0,4 мл/хв. Час утримання для піродазолу складав 6,0 хв. Калібрувальні криві для препарату були лінійними у діапазоні

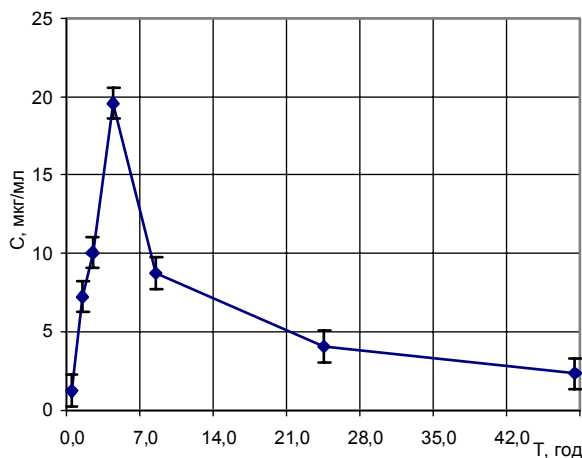


Рис. 1. Концентрація Н-піродазолу у крові щурів при однократовому внутрішньошлунковому введенні в дозі 31,5 мг/кг

від 1 до 20 мкл/мл. Ступінь здобуття – 67-70 %. Фармакокінетичний аналіз було проведено у межах одночастинної моделі і з всмоктування та за допомогою немодельних параметрів [1, 10, 12, 13].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. На рисунках 1 та 2 наведено фармакокінетичні профілі піродазолу в сироватці та згустку крові й Н³-піродазолу в крові білих щурів. Фармакокінетичні криві піродазолу та Н³-піродазолу значно відрізнялися як за формою, так і за концентраційним рівнем (майже на два порядки). Максимальна концентрація піродазолу в сироватці крові спостерігалася через 30 хв після введення (0,140 мкг/мл), а в згустку крові – через 10 хв (0,146 мкг/мл), Н³-піродазолу в крові – через 4 год (19,6 мкг/мл), тоді як піродазол ні у сироватці, ні в клітинній фракції крові не визначався. Отримані дані дозволяють припустити, що піродазол піддавався метаболізму в організмі тварин та/чи частково руйнувався у шлунково-кишковому тракті. Звертає на себе увагу і той факт, що концентрація у згустку крові була вищою, ніж у сироватці. Це свідчить про те, що у перші 30 хв спостереження вміст піродазолу у клітинних крові превалював над сироватковим.

Крива Н³-піродазолу в крові найбільш адекватно описувалася наведеним нижче рівнянням:

$$C(t)=33,04(e^{-0,11t}-e^{-0,4t})$$

Н³-піродазол всмоктував із шлунково-кишкового тракту. Концентрація зростала в цілому з помірною швидкістю, що відобразалося у величинах K_{abs} та $T_{1/2abs}$ (табл. 1). Час досягнення максимальної концентрації у крові, розрахований у межах одночастинної моделі і з всмоктування, (T_{max}), незначно відрізнявся від

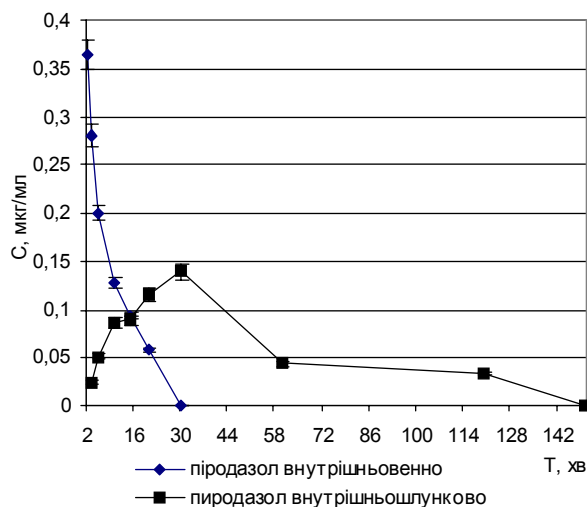


Рис. 2. Фармакокінетика піродазолу в білих щурів при внутрішньовенному та внутрішньошлунковому введенні.

Таблиця 1 – Фармакокінетичні параметри піродазолу та Н³-піродазолу при одноразовому внутрішньошлунковому введенні в дозі 31,5 мг/кг

Параметр та його розмірність	Н ³ -піродазол (кров)	Піродазол (сироватка крові)	Піродазол (згусток крові)
Період напіввсмоктування ($T_{1/2abs}$), год	1,733	–	–
Період напіввиведення ($T_{1/2}$), год	6,30	0,82	0,675
Константа всмоктування (K_{abs}), год ⁻¹	0,400	–	–
Константа елімінації (K_{el}), год ⁻¹	0,110	0,846	1,027
Час досягнення максимальної концентрації (T_{max}), год	4,452	0,5	0,16
Уявний об'єм розподілу (V_d), л/кг	1,315	–	–
Стаціонарний об'єм розподілу (V_{ss}), л/кг	–	253,46	219,44
Кінетичний об'єм розподілу (V_k), л/кг	0,362	–	–
Загальний кліренс (Cl), л/(кг·год)	0,145	187,77	203,44
Площа під фармакокінетичною кривою (AUC), мкг·год/мл	217,77	0,17	0,15
Максимальна уявна концентрація (C_0), мкг/мл	23,90	–	–
C_{max} , мкг/мл	19,60	0,14	0,146
MRT, год	18,45	1,35	1,07
AUC/ C_{max} , год ⁻¹	–	0,82	1,03

експериментального часу досягнення максимуму в крові (табл. 1). Можна стверджувати, що в період часу 0-4 год всмоктування Н³-піродазолу превалювало над елімінацією. Константа всмоктування (K_{abs}) значно перевищувала величину константи елімінації (K_{el}). Тому висхідна гілка кривої характеризувала всмоктування, спадна – елімінацію. При аналізі фармакокінетичних параметрів звертали на себе увагу величини уявного та стаціонарного об'ємів розподілу, умовних параметрів, що характеризують ступінь захоплення препарату тканинами з крові: $V_d=1,315$ л/кг (Н³-піродазол), $V_{ss}=243,46$ л/кг (піродазол, сироватка крові), $V_{ss}=219,44$ л/кг (піродазол, згусток крові) [4, 6, 9]. Ці величини значно перевищували 0,2 л/кг і дозволяли припускати невисокий ступінь зв'язування з білками крові [2, 3]. При аналізі кривої Н³-піродазолу в крові виявлено відносно великі величини площі під фармакокінетичною кривою, екстрапольованою до нескінченності "концентрація – час" (AUC), і величини загального кліренсу Cl. Величини AUC піродазолу у сироватці та клітинній частині крові на декілька порядків були нижчими, ніж AUC Н³-піродазолу в крові. На фоні значних величин загального кліренсу Cl отримані дані дозволяють припустити швидкий метаболізм та інтенсивний перехід з центральної камери (кров'яного русла) в периферичну (тканини та органи експериментальних тварин) [4]. Значно відрізнялися і процеси елімінації піродазолу та Н³-піродазолу. Концентрація піродазолу в клітинній фракції крові знижувалася в період 10-30 хв, а у сироватці – 30 хв-2 год. Вони мали порівнювані величини $T_{1/2}$, K_{el} та MRT (табл. 1). Елімінація Н³-піродазолу переважала над всмоктуванням

у період від 4 до 48 год після введення. Через 8 год після введення концентрація знижувалася більш ніж у 2 рази порівняно з максимально досліджуваною. Через 24 год після введення вона зменшувалася о 4,08 мкг/мл, а через 48 год – до 2,33 мкг/мл. Більш повільна елімінація піродазолу відображається у відповідних фармакокінетичних параметрах (табл. 1). Повільне всмоктування із шлунково-кишкового тракту Н³-піродазолу може бути однією з причин значної величини періоду напівелімінації порівняно з періодом напівелімінації піродазолу в сироватці крові. Порівняння концентрації радіоактивної речовини в сечі та її вмісту в крові показало, що швидкість екскреції нирками та концентрація Н³-піродазолу в крові взаємопов'язані. Значна кількість речовини виводилася вже в перші 0,5 год після введення 4,34 % від введеного Н³-піродазолу (рис. 3). У проміжок

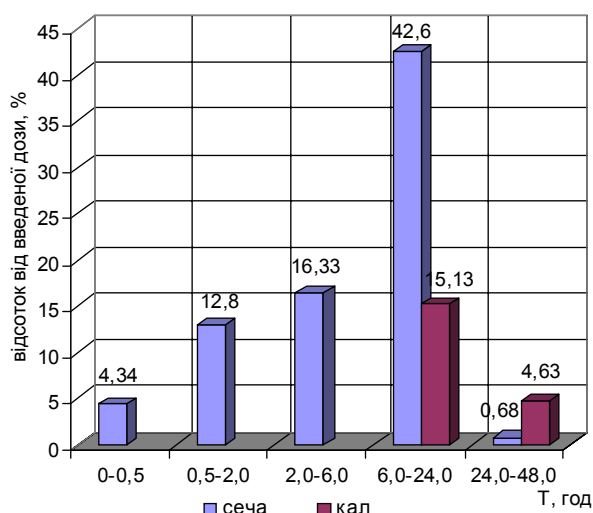


Рис. 3. Динаміка виведення Н³-піродазолу при одноразовому внутрішньошлунковому введенні у дозі 31,5 мг/кг.

Таблиця 2 – Фармакокінетичні параметри Н³-піродазолу в сечі після внутрішньошлункового введення в дозі 31,5 мг/кг

Параметр	Значення
Період напіввиведення ($T_{1/2el}$), год	17,325
Середній час утримання (MRT), год	42,411
Константа елімінації (K_{el}), год ⁻¹	0,04
Кумулятивна екскреція (A_e), мг	24,235
Нирковий кліренс (Cl), л/(кг·год)	0,111

часу 0,5-2 год виводилося до 12,8 % від введеної дози. У цей час з калом Н³-піродазол практично не виводився. Це свідчить про те, що в даний проміжок часу нирковий шлях елімінації є головним. У проміжок часу 2-6 год після введення концентрація із сечею Н³-піродазолу зростала до 2,572 мг/мл. У цей час із сечею виводилося до 16,33 % від введеної дози (рис. 3). У період 6-24 год після введення виводилося до 42,6 % від введеної речовини. Взагалі протягом доби виводилося більш ніж 75 % від введеної речовини (24,018 мг/добу). В таблиці 2 наведено фармакокінетичні параметри Н³-піродазолу в сечі. Їх аналіз дозволяє говорити про тривалість його елімінації ренальним шляхом (K_{el} , MRT і $T_{1/2el}$). Н³-піродазол виводився з організму щурів при внутрішньошлунковому введенні здебільшого реальним шля-

хом. Показано, що сполуки, які виводились через нирки здебільшого у неметаболізованому вигляді, мали високий ступінь відповідності значень між $T_{1/2}$ та MRT у крові й $T_{1/2el}$ і MRT у сечі [14]. Отримані дані можуть свідчити, з одного боку, про високий рівень руйнування піродазолу в кислому середовищі шлунка, а з іншого – його метаболізмом у печінці при первинному проходженні та біодеградації у крові.

ВИСНОВКИ. 1. Піродазол швидко всмоктується із шлунково-кишкового тракту $AUC/C_{max}=0,82$ год⁻¹, $MAT=1,138$ год).

2. Низький рівень концентрації піродазолу в крові, ймовірно пов'язаний з можливістю руйнування його у кислому середовищі шлунка та можливим метаболізмом у крові й печінці.

ЛІТЕРАТУРА

1. Агафонов А.А., Пиотровский В.К. Программа M-IND оценки системных параметров фармакокинетики модельно-независимым методом статистических моментов // Химико-фармацевт. журн. – 1991. – **25**, № 10. – С. 16-19.
2. Белоусов Ю.Б., Моисеев В.С., Лепахин В.К. Клиническая фармакология и фармакотерапия. – М.: Универсум паблишинг, 1997. – 530 с.
3. Беляева М.Л. Соотношение между концентрацией в крови и тканях мышей активных форм диазепам, измеряемых радиорецепторным методом // Фармакол. и токсикол. – 1990. – **53**, № 6. – С. 56-48.
4. Бойко С.С., Жердев В.П., Дворянинов А.А. и др. Фармакокинетика и метаболизм гептапептида – перспективного синтетического аналога тафтсина с психостимулирующим действием у крыс // Эксперим. и клинич. фармакол. – 1998. – **61**, № 5. – С. 42-45.
5. Жила В.А., Грачев А.В. Токсикокинетика хлорофоса в крови и мозге крыс при лечении атропи-

- ном // Фармакология и токсикология: Сб. научн. тр. – К.: Здоров'я, 1988. – Вып. 23. – С. 88-91.
6. Кивман Г.Я., Рудзит Э.А., Яковлев В.П. Фармакокинетика химиотерапевтических препаратов. – М.: Медицина, 1982. – 256 с.
7. Курт Сигизмунд. Опухолевые боли – поэтапная схема ВОЗ // Pharmedicum. – 1995. – № 1. – С. 9-11.
8. Курт Сигизмунд. Симптом и болезнь // Pharmedicum. – 1995. – № 1. – С. 3.
9. Лужников Е.А. Клиническая токсикология. – М.: Медицина, 1982. – 368 с.
10. Пиотровский В.К. Метод статистических моментов и модельно-независимые параметры // Фармакол. и токсикол. – 1986. – **49**, № 5. – С. 118-127.
11. Приготовление образцов для измерения активности с помощью жидкостных сцинтилляторов // Перевод УкрНИИТИ. – 1975. – № 4918. – 259 с.
12. Соловьев В.Н., Фирсов А.А., Филов В.А. Фармакокинетика. – М.: Медицина, 1980. – 423 с.
13. Фирсов А.А., Пиотровский В.К. Фармакокинетические методы в биофармации: оценка био-

доступности и пресистемная элиминация лекарственных средств // Итоги науки и техники. Фармакология. Химиотерапевтические средства. – М.: ВИНТИ, 1984. – Т. 14. – С. 114-227.

14. Чернышева Г.А., Плотников М.Б., Смолякова В.И., Фокин В.А. Фармакокинетика полиосома //

Экперим. и клинич. фармакол. – 1998. – 61, № 5. – С. 50-52.

15. Ярош О.К. Фармакодинаміка сучасних опіоїдних анальгетиків, присутніх на українському ринку // Вісник фармакології та фармації. – 2003. – № 5. – С. 6-12.

ФАРМАКОКИНЕТИКА НОВОГО НЕОПИОИДНОГО АНАЛЬГЕТИКА ПИРОДАЗОЛА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

А.К. Ярош, Ф.П. Тринус, Т.А. Бухтиарова, О.Е. Ядловский, Т.В. Шатыркина, А.П. Николаева, В.С. Хоменко, З.П. Омеляненко
ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ, КИЕВ

Резюме

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и радиоактивной индикации изучено фармакокинетику нового неопиоидного анальгетика пиродазола. Вияснено, что он быстро всасывается из желудочно-кишечного тракта ($AUC/C_{max}=0,82 \text{ ч}^{-1}$), интенсивно распределяется по органам и тканям организма ($V_{ss}=253,46 \text{ л/кг}$) и быстро элиминирует ($T_{1/2}=0,82 \text{ ч}$, $Cl=187,77 \text{ л/(кг·ч)}$). Показано низкий концентрационный уровень пиродазола, что может быть связано с разрушением его в желудочно-кишечном тракте и/или метаболизмом.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фармакокинетика, анальгетик, пиродазол.

PHARMACOKINETICS OF NEW NONOPIOID ANALGESIC PIRODAZOL IN EXPERIMENT

O.K. Yarosh, F.P. Trinus, T.A. Bukhtiarova, O.Y. Yadlovsky, T.V. Shatyrykina, A.P. Nikolayeva, V.S. Khomenko, Z.P. Omeliyanenko.
INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF AMS OF UKRAINE, KYIV

Summary

By method of a highly effective liquid chromatography and radioactive indication it is investigated the pharmacokinetics of a new nonopioid analgesic pirodazol. It is shown, that analgesic is quickly absorbed from gastrointestinal path ($AUC/C_{max} = 0,82 \text{ h}^{-1}$), is distributed intensively on bodies and tissues of organism ($V_{ss}=253,46 \text{ l/kg}$), and is rapidly eliminated ($T_{1/2}=0,82 \text{ h}$, $Cl=187,77 \text{ l/(kg·h)}$). It is shown a low concentration level of pirodazol that may be connected with its destruction in gastrointestinal path and/or with metabolism.

KEY WORDS: pharmacokinetics, analgesic, pirodazol.

Отримано 11.06.2004 р.

Адреса для листування: О.К. Ярош, Інститут фармакології та токсикології АМН України, вул. Ежена Потье, 14, Київ, 03057, Україна.

ФАРМАКОЛОГІЧНИЙ СКРИНІНГ АКТОПРОТЕКТОРНОЇ АКТИВНОСТІ НОВИХ ЗАСОБІВ ПРИРОДНОГО ПОХОДЖЕННЯ

О.Я. Міщенко, Л.В. Яковлева

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Вивчено актопротекторну дію нових засобів на моделях швидкісного та силового навантаження. Встановлено, що комбіновані засоби на основі продуктів природного походження – поллентар, фелентар, феполен та фенольний гідрофобний препарат прополісу, а також препарат антиоксидної дії альтан проявляють достовірну актопротекторну активність.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: актопротекторна активність, нові комбіновані засоби природного походження: поллентар, фелентар, феполен; фенольний гідрофобний препарат прополісу, препарат антиоксидної дії альтан.

ВСТУП. Відомо, що засоби адаптогенної дії покращують адаптивні можливості та забезпечують узгодження між загальноадаптивною та специфічною реакціями організму. Використання адаптогенів у комплексній терапії широкого кола захворювань з різною етіологією та патогенезом підвищує її ефективність [2,3].

Адаптогенна дія є комплексною та включає актопротекторну, антигіпоксичну, антиоксидну та антистресову активності, що реалізуються через вплив на різні сторони метаболізму, нейрогенну та гуморально-гормональну системи регуляції, структуру та функцію клітинних мембран, процеси перекисного окиснення ліпідів та стан антиоксидного захисту [2, 5].

Використання адаптогенів повинно бути тривалим. Ось чому перевагу віддають препаратам на основі продуктів природного походження, що характеризуються відсутністю побічних ефектів та високою спорідненістю з організмом людини. Серед природних об'єктів привертають увагу фенольні сполуки рослинного походження та продукти бджільництва – прополіс, а також нативний квітковий пилок (КП) або обніжжя бджолине, оригінальний біологічний склад яких визначає широкі можливості їх використання [6].

© О.Я. Міщенко – к.фарм.н., Л.В. Яковлева – д.фарм.н., проф., 2004.

Враховуючи вищенаведене, було доцільно оцінити можливі адаптогенні властивості розроблених у НФаУ комбінованих засобів на основі субстанцій природного походження та речовин фенольної природи – альтану з вільхи клейкої та сірої і фенольного гідрофобного препарату прополісу (ФГПП).

Враховуючи, що інтегральним показником здоров'я людини є її працездатність та той факт, що адаптогени широко використовуються перш за все для підвищення працездатності та витривалості [1], на першому етапі вивчали актопротекторну дію засобів у декількох дозах на моделях швидкісного та силового навантаження з метою визначення активної дози.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Вивчення впливу нових засобів на швидкісну витривалість щурів проводили при фізичному навантаженні бігом на третбані. У досліді використовували білих щурів-самців масою 200-220 г. Досліджувані комбіновані засоби вводили перорально 1 раз на день протягом 15 діб відповідним групам тварин у дозах, які було вибрано експериментально. ФГПП використовували в інтервалі доз, близьких до його вмісту в комбінованих засобах. Альтан вводили в діапазоні доз за антиоксидною дією. Препаратами порівняння на даній моделі були препарат тонізуючої дії, класичний адаптоген – екстракт елеутерококу

(виробниц-тва ВАТ "Лубнифарм") в дозі 2 мл/кг та біологічно активна добавка (БАД) з актопротекторним ефектом – янтавіт (Росія) в дозі 270 мг/кг. Дози препаратів порівняння для щурів визначено шляхом перерахування з добової дози людини з використанням коефіцієнта стійкості за методом Ю.Р. Риболовлева [7]. На тлі введення препаратів тварин тренували бігом на третбані протягом 10 хв при куті нахилу доріжки 10° і швидкості руху стрічки 25-28 м/хв для створення стабільного фону працездатності й адаптації до тривалих навантажень. На 15-й день щурів навантажували бігом при швидкості руху стрічки 42 м/хв і визначали тривалість бігу до повного втомлення. Критерієм повного втомлення вважали неспроможність тварин до подальшого бігу та втрата здатності реагувати на стимуляцію електричними розрядами на стартовій лінії бігової доріжки [1]. Визначення часу виконання вправи проводили з точністю до 1 с.

Здатність засобів підвищувати силову витривалість тварин вивчали на моделі висіння мишей на вертикальному стержні [4]. Препарат вводили дослідним групам тварин протягом 15 діб та за годину до проведення тестування. Миші контрольної групи одержували еквівалентний об'єм дистильованої води. Як препарат порівняння на цій моделі використовували БАД – пивні дріжджі з бурштиновою кислотою

(БК) (виробництва ЗАТ "Свободный", Росія) в дозі для тварин 586 мг/кг. Мишей фіксували на стержні за хвіст за допомогою еластичного шнура головою вниз. Тварини змушені були утримувати тіло так, щоб голова не занурювалась у воду. Критерієм повного втомлення вважали їх неспроможність до подальшого утримання тіла та занурення голови у воду протягом 10 с.

У роботі використовували декілька препаратів порівняння, різних за складом, у тому числі й полікомпонентних (дріжджі з бурштиновою кислотою), які є аналогами досліджуванним засобам за фармакологічною дією – підвищенням працездатності.

Експериментальні дані обробляли статистично, застосовуючи параметричний критерій Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз одержаних результатів свідчить про те, що всі комбіновані засоби проявляють достовірну актопротекторну активність, різну за рівнем вираження на моделі як швидкісного, так і силового навантаження (табл. 1, 2). Практично для всіх препаратів характерний прояв двонаправленого дозозалежного ефекту: спочатку до моменту досягнення певної дози обидва вектори мали одне направлення (тобто із збільшенням дози підвищувала активність),

Таблиця 1 – Актопротекторна активність нових засобів у тесті бігу на третбані

Препарати	Доза, мг/кг	Термін бігу на третбані, Хв	Активність, %	Найбільш активна доза, мг/кг
Контроль ФГПП		4,99±0,57	–	
	3	6,77±0,37*	35	
	6,25	8,80±0,28*	76	
	12,5	11,19±1,34*	124	12,5
Феполен	25	8,34±0,38*	67	
	12,5	7,11±0,44*	42	
	25	11,83±2,35*	137	
	50	12,96±2,76*	159	50
Фелентар	100	9,55±0,81*	91	
	6,25	8,66±0,64*	73	
	12,5	9,35±0,38*	87	
	25	10,51±0,87*	110	25
	50	10,43±1,03*	100	
Альтан	100	10,05±1,07*	101	
	1	6,14±1,80*	23	
	3	10,34±0,88*	107	3
	6	9,34±0,80*	87	
Екстракт елеутерококу	1,0	11,54±0,83*	131	
Контроль		4,46±0,74		
Поллентар	6,25	9,85±1,45*	89	
	12,5	9,85 ±1,45*	97	
	25	9,41±1,25*	110	25
	50	9,15±1,56*	105	
Янтавіт	270	6,16±1,27	38	

* – відхилення достовірні по відносно до відповідного контролю, p<0,05.

Таблиця 2 – Актопротекторна активність нових засобів у тесті вису на шесті

Препарати	Доза, мг/кг	Термін вису на шесті, Хв	Активність, %	Найбільш активна доза, мг/кг
Контроль		92,00±10,84		
ФГПП	3	96,25±1,97	5	
	6,25	131,86±11,80*	33	
	12,5	171,00±8,11*/**/**/****	86	12,5
	25	129,71±7,95*	41	
Феполен	12,5	108,71±9,00*	18	
	25	166,57±6,95*/**/**	81	25
	50	164,14±4,85*	78	
	100	142,43±4,85*	55	
Фелентар	6,25	119,86±6,10*	30	
	12,5	150,86±7,40*	63,9	
	25	166,57±2,33*	81	
	50	198,86±16,50*/**/**	116	50
Поллентар	100	171,14±17,45*	86	
	6,25	147,00±9,87*	59,8	
	12,5	143,43±7,19*	55,9	
	25	198,14±27,53*	115	
Альтан	50	217,00±11,06*/**/**	136	50
	100	149,00±7,25*	62	
	1	146,17±8,96*/**	59	1
	3	143,57±7,75*	56	
Екстракт елеутерококу	6	134,33±6,21*	46	
	1,0	162,00±11,65*/**	76	
Пивні дріжджі з БК	586	135,00±4,43*/**	43	

Примітка.* – відхилення достовірні відносно відповідного контролю, $p \leq 0,05$;

** – відхилення достовірні відносно до групи тварин, які одержували поллентар у дозі 50 мг/кг, $p \leq 0,05$;

*** – відхилення достовірні відносно групи тварин, які отримували пивні дріжджі з БК, $p \leq 0,05$;

**** – відхилення достовірні відносно до групи тварин, які одержували альтан у дозі 1 мг/кг, $p \leq 0,05$.

а далі залежність набувала протилежного характеру (з подальшим збільшенням дози актопротекторна активність знижувалася).

Як свідчать дані літератури, при оцінці актопротекторного ефекту некоректно розраховувати ефективну дозу (ED_{50}) з огляду на те, що інтерпретація даної дози на людину не дає аналогічного ефекту [8]. Отже, в скринінгових дослідженнях доцільним є визначення найбільш ефективної дози.

У тесті бігу на третбані препарат порівняння екстракт елеутерококу виявив ефект 131 %, а БАД янтавіт на основі бурштинової кислоти – лише на рівні 38 %. Аналогічну до екстракту елеутерококу активність мали феполен у дозі 50 мг/кг (159 %) та ФГПП у дозі 12,5 мг/кг (124 %). Менш виражену дію (статистично недостовірні відмінності) проявили поллентар (110 %), фелентар (110 %) та альтан (107 %). Усі ці препарати в інтервалі досліджуваних доз мали вірогідну перевагу над янтавітом. Одержані результати показали, що всі досліджувані препарати підвищують працездатність у тесті бігу на третбані.

За величиною максимально досяжної актопротекторної активності на моделі бігу на третбані засоби можна розташувати у порядку

зменшення вираження дії: феполен (159 %) > ФГПП (124 %) > поллентар (110 %) = фелентар (110 %) > альтан (107 %). За значенням дози, яка викликає максимальний актопротекторний ефект, препарати можна розташувати в дещо іншій послідовності.

Враховуючи той факт, що за максимальною ефективністю досліджувані препарати не мають достовірних відмінностей, тобто їх максимальна ефективність близька між собою, дози можна розглядати як такі, що викликають практично однаковий ефект, тобто як ізоефективні. При зіставленні ізоефективних доз як більш ефективні можна розглядати ті препарати, в яких максимальний ефект досягається шляхом використання меншої дози. У зв'язку з цим, препарати за ізоефективними дозами у порядку їх збільшення, тобто у порядку зменшення ефективності, можна розташувати в такий ряд: альтан (3 мг/кг) > ФГПП (12,5 мг/кг) > поллентар (25 мг/кг) = фелентар (25 мг/кг) > феполен (50 мг/кг).

У другій серії дослідів оцінювали дію препаратів на фізичну витривалість при статичному навантаженні (висіння на шесті). Нові засоби в найбільш активних дозах мали перевагу над препаратом порівняння – пивними

дріжджами та проявляли ефективність, аналогічну до екстракту елеутерококу, окрім поллентару. На даній моделі прослідковувалася чіткіша залежність вираження актопротекторної дії від складу засобу (табл. 2, 3).

Поллентар у дозі 50 мг/кг проявив найбільшу активність на рівні 136 %, вона була достовірною вищою за максимально досягнутою дію феполену (81 %), ФГПП (86 %), альтану (59 %) та препаратів порівняння – екстракту елеутерококу (76 %) і пивних дріжджів з БК (43 %). Фелентар за величиною актопротекторної дії (116 %) не поступався поллентару, проте і не мав статистично вірогідних переваг над феполеном, фенольними сполуками та екстрактом елеутерококу. Серед фенольних сполук достовірно більшу активність, порівняно з альтаном, мав ФГПП у дозі 12,5 мг/кг. Отже, за актопротекторною активністю на моделі вису на шесті засоби можна розташувати в такий ряд: поллентар (50 мг/кг) > фелентар (50 мг/кг) > феполен (50 мг/кг) > ФГПП (12,5 мг/кг) > альтан (1 мг/кг). Таким чином у тесті вису на шесті комбіновані засоби (поллентар) в цілому виявилися більш активними, ніж антиоксиданти альтан та ФГПП. Це пояснюється багатограним впливом комбінованих засобів на провідні адаптивні ланки організму, що і забезпечило їх більш виражений ефект, порівняно з власне антиоксидантними засобами (альтан, ФГПП), лише при профілактичному введенні. Проте антиоксидантні субстанції за ефективністю мали

переваги над комбінованими засобами в тесті бігу на третбані, під час якого формування підвищеної витривалості відбувалось на тлі тренувань, тобто не тільки під дією препаратів, а й за рахунок власних резервів організму.

Враховуючи, що всі досліджувані об'єкти містять фенольні сполуки (ФГПП або фенолосполуки КП), які виявляють антиоксидантні властивості, а комбіновані засоби ще й ряд БАД у складі квіткового пилку та бурштинової кислоти (поллентар), то, вочевидь, їх вплив на працездатність пов'язаний з фенольними сполуками. Можливо, наявність БК у складі поллентару та фелентару і забезпечила вищенаведені переваги в тесті вису на шесті.

Таким чином, як у тесті бігу на третбані (швидкісне навантаження), так і в тесті вису на шесті (статичне навантаження) нові комбіновані засоби та фенольні сполуки природного походження (ФГПП та альтан) достовірно підвищують працездатність тварин та є перспективними адаптогенними засобами для подальшого вивчення.

ВИСНОВОК. Нові засоби природного походження: поллентар, фелентар, феполен, фенольний гідрофобний препарат прополісу (ФГПП) та препарат антиоксидантної дії альтан проявляють вірогідну актопротекторну активність при швидкісному та статичному навантаженні.

Таблиця 3 – Залежність ефективності досліджуваних препаратів від складу

Препарати	Альтан	ФГПП	Феполен	Поллентар	Фелентар
Фенольні сполуки вільхи	+	–	–	–	–
ФГПП	–	+	+	–	+
Квітковий пилочок	–	–	+	+	+
Бурштинова кислота	–	–	–	+	+
Ізоефективні дози препаратів, мг/кг					
в тесті бігу на третбані	3	12,5	50	25	25
в тесті вису на шесті	1	12,5	25	50	50

ЛІТЕРАТУРА

1. Бобков Ю.Г., Виноградов В.М., Катков В.Ф. и др. Фармакологическая коррекция утомления.- 1984. – М.: "Медицина".- 42 с.
2. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма. – Ростов на-Дону,- 1979. – 119 с.
3. Дземан М.І. Погляд на проблему резистентності, реактивності та загальноадаптивних реакцій організму в клініці внутрішніх захворювань // Укр. мед. часопис. – 1999. – № 4 (12). – С. 97-100.

4. Каплан Е.Я., Цыренжакова О.Д., Шантанова Л.Н. Оптимизация адаптивных процессов организма. – М.: Наука, 1990. – 94 с.
5. Морозов И.С., Иванова И.А., Лукичева Т.А. Актопротекторные и адаптогенные свойства производных адамантана (обзор) // Химико-фармац. журн. – **35**, № 5. – 2001. – С. 3-6.
6. Омаров Ш.М. Целебные тайны продуктов пчеловодства. – Махачкала: Даг. кн. изд., 1997. – 328 с.

7. Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности // Доклады АН СССР. – 1979. – **247**, № 6. – С. 1513-1516.

8. Сейфулла Р.Д. Фармакологическая коррекция факторов, лимитирующих работоспособность человека // Эксперим. и клин. фармакол. – 1998. – **61**, № 1. – С. 3-12.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ АКТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ СРЕДСТВ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

О.Я. Мищенко, Л.В. Яковлева

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Изучено актопротекторное действие новых средств на моделях скоростной и силовой нагрузки. Установлено, что комбинированные средства на основании продуктов природного происхождения – поллентар, фелентар, феполен и фенольный гидрофобный препарат прополиса, а также препарат антиоксидного действия альтан проявляют достоверную актопротекторную активность.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: актопротекторная активность, новые комбинированные средства природного происхождения – поллентар, фелентар, феполен; фенольный гидрофобный препарат прополиса, препарат антиоксидного действия альтан.

PHARMACOLOGICAL SCREENING OF ACTOPROTECTIVE ACTIVITY OF NEW REMEDIES OF NATURAL ORIGIN

O.Y. Mischenko, L.V. Yakovlyeva

NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

Summary

The actoprotective action of new drugs on the models of high-speed and power loading was studied. It was established that the combined drugs on the basis of natural products: pollentar, felentar, fepolen and phenolic hydrophobic drug of propolis as well as a drug of antioxidative action altan have actoprotective activity.

KEY WORDS: actoprotective activity, new combined remedies of natural origin – pollentar, felentar, fepolen; phenolic hydrophobic drug of propolis, drug of antioxidative action altan.

Отримано 16.08.2004 р.

Адреса для листування: О.Я. Мищенко, НФаУ, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.

ВПЛИВ L-АРГІНІНУ, N-НІТРО-L-АРГІНІНУ ТА АМІНОГУАНІДИНУ НА МЕТАБОЛІЧНІ ПРОЦЕСИ У МОЗКУ ПРИ ХРОНІЧНІЙ ГЕМІЧНІЙ ГІПОКСІЇ, СПРИЧИНЕНІЙ ЧАДНИМ ГАЗОМ

К.А. Посохова, О.В. Гриців, І.М. Кліщ

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Досліджено вплив донатора та блокаторів синтезу оксиду азоту на прояви експериментальної хронічної гемічної гіпоксії, спричиненої чадним газом. Встановлено, що введення попередника синтезу оксиду азоту L-аргініну (по 25 мг/кг маси щура внутрішньоочеревинно за 30 хв до інгаляції монооксиду вуглецю щоденно впродовж 7 та 14 діб) призводить до зростання у мозковій тканині вмісту нітрит-аніона з одночасним зменшенням кількості продуктів переокиснення ліпідів, підвищенням активності систем антиоксидного захисту та енергозабезпечення мітохондрій. Введення тваринам неселективного блокатора NO-синтетази N-нітро-L-аргініну та, меншою мірою, блокатора індукцибельної NO-синтетази аміногуанідину (обидві речовини – по 10 мг/кг маси щура внутрішньоочеревинно за 30 хв до моделювання гіпоксії щоденно протягом 7 та 14 діб) супроводжується прогресуючим зменшенням утворення оксиду азоту, збільшенням вмісту продуктів переокиснення мембранних ліпідів, пригніченням активності ферментів антиоксидного захисту та мітохондріального електроннотранспортного ланцюга у тканині мозку під-дослідних тварин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіпоксія, чадний газ, L-аргінін, N-нітро-L-аргінін, аміногуанідин, мозок.

ВСТУП. Значна кількість патологічних станів, в основі яких лежить розвиток гіпоксичного синдрому, супроводжується ознаками гіпоксії головного мозку [7, 12]. Особливу увагу дослідників продовжує привертати гемічна гіпоксія, спричинена чадним газом, через важкість її перебігу та незадовільну корекцію [8, 15, 16]. У ході досліджень, виконаних раніше у нашій лабораторії, було встановлено, що на перебіг гіпоксичних станів різної етіології, зокрема гострих гемічної гіпоксії, викликаной монооксидом вуглецю, та циркуляторно-гемічної гіпоксії, можуть істотно вплинути зміни синтезу оксиду азоту під дією його донаторів чи інгібіторів [10, 11]. Доведено, що попередники синтезу оксиду азоту L-аргінін та глутаргін мають лікувально-профілактичний ефект при даній патології, а блокатор NO-синтетази N-нітро-L-аргінін погіршує прояви гіпоксичних станів. З вищезазначеного випливає, що встановлення особливостей дії модуляторів синтезу оксиду азоту на патологічні прояви у мозковій тканині, які спостерігаються при хронічній гемічній гіпоксії, спричиненій чадним газом, є актуальним та важливим у практичному відношенні завданням, виконання якого сприятиме пошуку нових ефективних способів корекції цієї тяжкої патології.

© К.А. Посохова – д.мед.н., проф., О.В. Гриців, І.М. Кліщ – д.мед.н., проф., 2004.

Метою даного дослідження було встановлення особливостей впливу попередника синтезу оксиду азоту L-аргініну, неселективного блокатора NO-синтетази N-нітро-L-аргініну та селективного блокатора індукцибельної NO-синтетази аміногуанідину на перебіг хронічної гемічної гіпоксії, викликаной монооксидом вуглецю, та метаболічні порушення у мозковій тканині, які виникають при цій патології.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на 108 щурах-самцях лінії Вістар масою 120-150 г, яких утримували на звичайному харчовому, світловому та температурному режимі віварію. Хронічну гемічну СО-гіпоксію (СОГ) спричиняли за допомогою пристрою власної конструкції для інгаляційного отруєння тварин монооксидом вуглецю [9] при концентрації СО 9000 мг/м³ (експозиція – 15 хв, щоденно, 7 та 14 діб). Контролем для СОГ були щури з хронічною гіпоксичною гіпоксією (ГГ), яку викликали шляхом утримування тварин у замкненому просторі 15 хв щоденно впродовж 7 та 14 діб. Кожного разу за 30 хв до отруєння тварин СО їм вводили внутрішньоочеревинно: у I серії – попередник синтезу оксиду азоту L-аргінін ("Sigma", США, по 25 мг/кг маси щура), у II серії – блокатор синтезу оксиду азоту неселективної дії N-нітро-L-аргінін ("Oldrich. Chem.

Со.", Англія, по 10 мг/кг маси), у III серії – селективний блокатор індуцибельної NO-синтази аміногуанідин (ООО "Хімлабораторреактив", Україна, по 10 мг/кг маси). На 8-й та 14-й дні експерименту, через 24 години після останнього епізоду отруєння, щурів декапітували під тіопенталовим наркозом та досліджували у гомогенатах мозку: вміст нітрит-аніона (NO_2^-) [14] – стабільного метаболіту NO, ТБК-активних продуктів (ТБК) [1], гідроперекисів ліпідів (ГПЛ) [2], активність каталази (КАТ) [5], супероксид-дисмутази (СОД) [13], цитохромоксидази (ЦХО) [6], сукцинатдегідрогенази (СДГ) [3]. Результати досліджень обробляли статистично, використовуючи t-критерій Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що при хронічній гемічній СОГ у гомогенатах мозку піддослідних тварин в обидва терміни дослідження знижувався вміст стабільного метаболіту NO нітрит-аніона – відповідно, на 15 і 23 % (табл. 1). Це може бути пов'язано не тільки з пригніченням утворення NO при гемічній гіпоксії, але й з посиленням механізмів його інактивації, наприклад вільними радикалами при підвищенні процесів ліпопероксидації за умов гіпоксії [12]. Дане припущення знайшло підтвердження у наших дослідженнях, про що свідчило зростання кількості ГПЛ та ТБК на 9 і 12 % (8-й день) та 14 і 18 % (15-й день дослі-

дження). Вказані зміни супроводжувалися пригніченням активності ферментів антиоксидного захисту: СОД – на 16 і 17 %, КАТ – на 13 і 21 % відповідно до термінів експерименту. При ураженні тварин чадним газом спостерігалось також порушення енергозабезпечувальних процесів у мітохондріях: зменшувалась активність ЦХО на 14 і 19 % та СДГ – на 12 і 10 % на 8-й та 15-й дні досліду (табл. 1).

Введення попередника синтезу NO L-аргініну при СОГ призводило до зростання рівня NO_2^- у гомогенатах мозку на 18 і 20 % на 8-й та 15-й дні досліду. Одночасно відбувалося гальмування активності процесів ліпопероксидації: вміст ГПЛ та ТБК знижувався на 8-й день на 8 і 11 %, на 15-й день – на 13 і 15 %. Поряд з даними змінами зростала активність ферментів системи антиоксидного захисту: СОД – на 19 та 22 %, КАТ – на 11 та 18 %. На тлі введення L-аргініну відзначалося також покращання процесів енергозабезпечення в мітохондріях. Про це свідчило зростання активності ЦХО на 20 та 13 %, СДГ – на 15 та 12 % відповідно до термінів експерименту (табл. 1).

За умов застосування при СОГ неселективного блокатора синтезу оксиду азоту N-нітро-L-аргініну відмічено прогресування зниження рівня NO_2^- на 12 та 14 % на 8-й і 15-й дні експерименту (табл. 2). Одночасно з пригніченням синтезу оксиду азоту в мозковій тканині

Таблиця 1 – Вплив L-аргініну на деякі показники перекисного окиснення ліпідів, антиоксидного захисту та активність ферментів мітохондрій у мозку при хронічній гемічній гіпоксії, спричиненій чадним газом

Показник		ТБК, ммоль/кг	ГПЛ, ум. од./г	СОД, ум. од./кг	КАТ, кат/кг	ЦХО, ммоль/ (хв·кг)	СДГ, ммоль/ (хв·кг)	NO_2^- , ммоль/кг
ГГ	7 днів	9,33±0,13	9,25±0,05	1,88±0,06	4,82±0,04	9,18±0,04	3,44±0,12	2,47±0,06
	14 днів	9,81±0,15	9,71±0,05	1,78±0,08	4,45±0,03	8,78±0,05	3,12±0,07	2,29±0,11
СОГ	7 днів	10,47±0,14*	10,11±0,05*	1,58±0,09*	4,18±0,06*	7,87±0,06*	3,04±0,10*	2,10±0,08*
	14 днів	11,61±0,10*	11,04±0,03*	1,47±0,06*	3,49±0,06*	7,09±0,04*	2,81±0,09*	1,76±0,07*
СОГ+ L-аргінін	7 днів	9,36±0,19**	9,26±0,05**	1,87±0,08**	4,63±0,03**	9,45±0,08**	3,50±0,14**	2,48±0,06**
	14 днів	9,93±0,10**	9,55±0,04**	1,79±0,06**	4,11±0,02**	8,02±0,05**	3,14±0,08**	2,11±0,09**

Примітка. У цій і наступних таблицях: * – різниця достовірна відносно ГГ; ** – різниця достовірна відносно СОГ.

Таблиця 2 – Вплив N-нітро-L-аргініну на деякі показники перекисного окиснення ліпідів, антиоксидного захисту та функціональну активність ферментів мітохондрій у мозку тварин при хронічній гемічній гіпоксії, спричиненій чадним газом

Показник		ТБК, ммоль/кг	ГПЛ, ум. од./г	СОД, ум. од./кг	КАТ, кат/кг	ЦХО, ммоль/ (хв·кг)	СДГ, ммоль/ (хв·кг)	NO_2^- , ммоль/кг
ГГ	7 днів	8,38±0,09	9,25±0,04	2,22±0,07	4,82±0,04	9,25±0,05	4,05±0,09	2,11±0,07
	14 днів	8,90±0,13	9,77±0,04	2,08±0,07	4,64±0,03	8,66±0,05	3,82±0,13	2,05±0,08
СОГ	7 днів	9,72±0,15*	10,14±0,02*	1,87±0,09*	4,15±0,07*	8,02±0,05*	3,52±0,14*	1,85±0,07*
	14 днів	11,04±0,09*	10,81±0,04*	1,57±0,03*	3,55±0,04*	7,05±0,02*	3,14±0,11*	1,72±0,08*
СОГ+ N-нітро- L-аргінін	7 днів	11,28±0,15**	11,21±0,03**	1,51±0,10**	3,58±0,05**	7,12±0,05**	4,31±0,12**	1,63±0,05**
	14 днів	12,65±0,09**	12,16±0,16**	1,29±0,06**	2,96±0,04**	5,93±0,07**	4,08±0,11**	1,47±0,06**

Таблиця 3 – Вплив аміногуанідину на деякі показники перекисного окиснення ліпідів, антиоксидного захисту та функціональну активність мітохондрій у мозку тварин при хронічній гемічній гіпоксії, спричиненій чадним газом

Показник		ТБК, ммоль/кг	ГПЛ, ум. од./г	СОД, ум. од./кг	КАТ, кат/кг	ЦХО, ммоль /(хв·кг)	СДГ, ммоль /(хв·кг)	NO ₂ ⁻ , ммоль/кг
Групи тварин								
ГГ	7 днів	8,38±0,09	9,25±0,04	2,22±0,07	4,82±0,04	9,25±0,05	4,05±0,09	2,11±0,07
	14 днів	8,90±0,13	9,77±0,04	2,08±0,07	4,64±0,03	8,66±0,05	3,82±0,13	2,05±0,08
СОГ	7 днів	9,72±0,15*	10,14±0,02*	1,87±0,09*	4,15±0,07*	8,02±0,05*	3,52±0,14*	1,85±0,07*
	14 днів	11,04±0,09*	10,81±0,04*	1,57±0,03*	3,55±0,04*	7,05±0,02*	3,14±0,11*	1,72±0,08*
СОГ+ аміногу- анідин	7 днів	10,80±0,15**	10,93±0,03**	1,62±0,06**	3,72±0,05**	7,21±0,05**	4,05±0,12**	1,69±0,03**
	14 днів	12,50±0,15**	11,85±0,05**	1,41±0,05**	3,06±0,02**	6,12±0,06**	3,75±0,15**	1,52±0,02**

спостерігалось зростання вмісту продуктів перекиснення мембранних ліпідів: ГПЛ – на 11 та 13 %, ТБК – на 16 та 15 % відповідно до термінів отруєння. Це супроводжувалося пригніченням системи антиоксидного захисту, про що свідчило зменшення активності СОД та КАТ, відповідно, на 19 і 14 % (8-й день) та 18 і 17 % (15-й день досліджу). Вказані зміни поєднувалися із зниженням активності ЦХО на 11 та 16 % відповідно до термінів отруєння, порівняно із групою тварин, які мали чисту СОГ, з одночасним зростанням активності СДГ на 22 і 30 % (табл. 2).

Введення при СОГ селективного блокатора індукцибельної NO-синтетази аміногуанідину викликало зміни, аналогічні тим, які відмічено у групі тварин, що отримували N-нітро-L-аргінін, але вони були виражені меншою мірою. У цій серії експериментів у тканині мозку зареєстровано зниження рівня NO₂⁻ на 10 і 13 %, зростання вмісту продуктів ліпопероксидації (ТБК – на 11 та 13 %, ГПЛ – на 8 та 10 %), подальше пригнічення активності ферментів антиоксидного захисту (СОД – на 14 та 11 %, КАТ – на 10 та 14 % на 8-й і 15-й дні відповідно) (табл. 3). Одночасно зменшувалася на 10 і 13 % активність ЦХО та зростала на 15 та 19 % активність СДГ.

Таким чином, на тлі активації синтезу оксиду азоту під впливом екзогенного L-аргінину в наших досліджах спостерігалось зменшення ознак ураження мозкової тканини при хронічній гемічній гіпоксії, спричиненій монооксидом вуглецю. Протилежний ефект відмічено в разі застосування інгібіторів NO-синтетази, при введенні яких погіршувався перебіг вказаної патології, що проявлялося прогресуванням процесів перекиснення мембранних ліпідів, пригніченням систем антиоксидного захисту і енергозабезпечення мітохондрій на тлі зменшення синтезу оксиду азоту. Можливо, позитивна дія L-аргінину при даному виді гіпоксії пов'язана з його антиоксидними властивостями [11], а також із збільшенням під його впливом окси-

генації мозкової тканини за рахунок підвищення кисневотранспортуючих властивостей крові та покращання кровопостачання [4].

ВИСНОВКИ. Хронічна гемічна гіпоксія, викликана чадним газом, супроводжується пригніченням синтезу оксиду азоту в мозковій тканині, посиленням процесів перекиснення мембранних ліпідів, зниженням активності ферментів дихального ланцюга мітохондрій та системи антиоксидного захисту.

1. Повторне введення попередника синтезу оксиду азоту L-аргінину при хронічній гемічній гіпоксії, викликаній монооксидом вуглецю, сприяє покращанню метаболічних процесів у мозковій тканині, що проявляється зменшенням вмісту продуктів перекисного окиснення мембранних ліпідів, підвищенням активності систем антиоксидного захисту та енергозабезпечення мітохондрій на тлі зростання рівня у мозку нітрит-аніона.

2. Неселективний блокатор NO-синтетази N-нітро-L-аргінін, меншою мірою селективний блокатор індукцибельної NO-синтетази аміногуанідин за їх повторного введення при хронічній гіпоксії, викликаній чадним газом, призводять до погіршення її перебігу, що проявляється подальшим гальмуванням синтезу оксиду азоту в мозку, зростанням вмісту продуктів ліпопероксидації, пригніченням функціонування системи антиоксидного захисту та дихального ланцюга мітохондрій, порівняно з групою тварин, яких піддавали впливу лише монооксиду вуглецю.

3. Встановлення позитивного впливу донатора оксиду азоту L-аргінину на перебіг експериментальної хронічної гемічної гіпоксії, спричиненої чадним газом, зокрема його здатності покращувати метаболічні процеси у мозковій тканині, відкриває перспективи для пошуку нових ефективних способів лікування даної патології за допомогою речовин, які стимулюють синтез оксиду азоту.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41-43.
2. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33-35.
3. Ещенко Н.Д., Вольский Г.Г. Определение количества янтарной кислоты и активности сукцинатдегидрогеназы // Методы биохимических исследований. – Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1982. – С. 207-212.
4. Зинчук В.В. Участие оксида азота в формировании кислородсвязывающих свойств гемоглобина // Усп. физиологич. наук. – 2003. – **34**, № 2. – С. 33-45.
5. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
6. Кривченкова Р.С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий // Современные методы в биохимии / За ред. В.Н. Орехович – М.: Медицина, 1977. – С. 47-49.
7. Лукьянова Л.Д. Биоэнергетическая гипоксия: понятие, механизмы и способы коррекции // БЭБИМ. – 1997. – 124, № 9. – С. 244-253.
8. Николенко В.Ю. Отравления оксидом углерода (угарным газом) // Международный. Мед. журн. – 1998. – № 2. – С. 108-110.
9. Пат. 55682 А. Україна, МПК G09B23/28. Пристрій для інгаляційного затруєння тварин монооксидом вуглецю / К.А. Посохова, В.В. Буковська, О.В. Гриців, В.В. Дем'яненко. – 2002043461; Заявл. 25.04.2002; Опубл. 15.04.2003, Бюл. № 4. – 2 с.
10. Посохова К.А., Буковська В.В., Кліщ І.М., Олещук О.М. Зміни деяких біохімічних показників при важкій гемічній гіпоксії, викликаній інгаляцією монооксиду вуглецю // Здобутки клінічної та експериментальної медицини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – Вип. 7. – С. 139.
11. Посохова К.А., Буковська В.В. Вплив L-аргініну та N-нітро-L-аргініну на деякі показники прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу за умов гострої циркуляторно-гемічної гіпоксії // Буков. медичний вісник. – 2002. – **6**, № 3. – С. 185-190.
12. Савченкова Л.В. Биохимические основы патогенеза гипоксического синдрома // Укр. мед. альм. – 1998. – № 1. – С. 90-99.
13. Чевари С., Чаба И., Секей И. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения её в биологических материалах // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678-684.
14. Green L.S., David A.W., Glogovski J. et al. Analysis of nitrate, nitrite and [¹⁵N] nitrate in biological fluids // *Analyt. Biochem.* – 1982. – **126**, № 1. – P. 131-138.
15. Thom S.R., Ischropoulos H. Mechanism of oxidative stress from low levels of carbon monoxide // *Res. Rep. Health Eff. Inst.* – 1997. – **80**, № 1. – P. 21-27.
16. Varon J., Marik P.E., Fromm R.E. et al. Carbon monoxide poisoning: a review for clinicians // *J. Emerg. Med.* – 1999. – **17**, № 1. – P. 87-93.

ВЛИЯНИЕ L-АРГИНИНА, N-НИТРО-L-АРГИНИНА И АМИНОГУАНИДИНА НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В МОЗГЕ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ГЕМИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ, ВЫЗВАННОЙ УГАРНЫМ ГАЗОМ

Е.А.Посохова, О.В.Грыцив, И.Н. Клич

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И.Я.ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Исследовано влияние донатора и блокаторов синтеза оксида азота на проявления экспериментальной хронической гемической гипоксии, вызванной угарным газом. Установлено, что введение прекурсора синтеза оксида азота L-аргинина (по 25 мг/кг веса крысы, внутрибрюшинно за 30 мин до ингаляции монооксида углерода ежедневно в течение 7 и 14 суток) приводит к возрастанию в мозговой ткани содержания нитрит-аниона с одновременным уменьшением количества продуктов перекисного окисления липидов, повышением активности систем антиоксидантной защиты и энергообеспечения митохондрий. Введение животным неселективного блокатора NO-синтетазы N-нитро-L-аргинина и, в меньшей степени, блокатора индуцибельной NO-синтетазы аминоксидина (оба вещества – по 10 мг/кг массы крысы внутрибрюшинно за 30 мин до моделирования гипоксии ежедневно на протяжении 7 и 14 суток сопровождается прогрессирующим уменьшением образования оксида азота, и увеличением содержания продуктов перекисления мембранных липидов, угнетением активности ферментов антиоксидантной защиты и митохондриальной электронотранспортной цепи в ткани мозга подопытных животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипоксия, угарный газ, L-аргинин, N-нитро-L-аргинин, аминоксидин, мозг.

EFFECT OF L-ARGININE, N-NITRO-L-ARGININE AND AMINOGUANIDINE ON METABOLIC PROCESSES IN BRAIN AT CHRONIC HAEMIC HYPOXIA, CAUSED BY CARBON MONOXIDE

K.A. Posokhova, O.V. Hrytsiv, I.M. Klisch
TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The effect of the donator and inhibitors of nitric oxide synthesis on manifestations of experimental chronic haemic hypoxia caused by carbon monoxide, has been investigated. The injection of the nitric oxide donator L-arginine (25 mg/kg, of body weight intraperitoneally, 30 min before daily exposure of carbon monoxide, during 7 and 14 days) was established to be accompanied by decreasing of the quantity of lipid peroxidation products in brain tissue, increasing of nitric-anion level and activities of antioxidant enzymes and energy-supplying processes of mitochondrias. In contrast, introduction of nonselective NO-synthetase inhibitor N-nitro-L-arginine and, in less measure, NO-synthetase selective inhibitor aminoguanidine (both substances 10 mg/kg of body weight intraperitoneally, 30 min before carbon monoxide exposure, daily, during 7 and 14 days) is accompanied by progressing decreasing of nitric oxide level, increasing of level of membrane lipid peroxidation products, depression of the enzymes of antioxidant defence and mitochondrial electron-transporting link in brain tissue of the animals.

KEY WORDS: hypoxia, carbon monoxide, L-arginine, N-nitro-L-arginine, aminoguanidine, brain.

Отримано 21.05.2004 р.

Адреса для листування: К.А. Посохова, Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

ВИДАВНИЦТВО "УКРМЕДКНИГА"

Передплатні видання Тернопільського державного
медичного університету 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

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЗМІН ЖИРНОКИСЛОТНОГО СПЕКТРА СИРОВАТКИ КРОВІ ПРИ ПОВЕРХНЕВИХ ВАСКУЛІТАХ ШКІРИ І ПАРАПСОРІАЗАХ

О.О. Яворовська

КИЇВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ ІМ. П.Л. ШУПИКА

Наведено результати газохроматографічного аналізу жирнокислотного спектра сироваткових ліпідів у хворих на парапсоріази і різні форми поверхневих васкулітів шкіри. Виявлено розподіл сироваток на дві вірогідно розбіжні групи. При ретроспективному поділі хворих, зважаючи на результати газохроматограм, встановлено односпрямованість змін метаболізму жирних кислот залежно від нозологічної одиниці.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: жирнокислотний спектр сироваткових ліпідів, парапсоріази, васкуліти шкіри.

ВСТУП. Серед дерматологічних захворювань значну частку складають дерматози з нез'ясованими етіологією та патогенезом. Такий стан перш за все обмежує обсяг терапевтичної корекції і можливості проведення профілактичних заходів. Серед даних захворювань найбільшу групу становлять парапсоріази. Питання про однорідність цієї групи викликає дискусію з часу її описання [3]. Найбільш небезпечними є тривалий хронічний перебіг, резистентність до терапії і ймовірність злоякісної трансформації при певних варіантах парапсоріазів. Лікування цих виключно резистентних захворювань дотепер залишається малодійовим. Найефективнішим на сьогодні методом вважають ПУВА-терапію, але можливість стимуляції при цьому злоякісної трансформації [2] обмежує тривалість її застосування. За вітчизняною класифікацією до групи парапсоріазів належить декілька нозологічних одиниць. При детальному вивченні клінічних проявів, а також при огляді хворих привертає увагу несхожість цих захворювань [3, 4].

Серед вітчизняних та зарубіжних науковців панує думка про токсикоалергічну природу віспоподібного парапсоріазу і належність його до васкулітів шкіри. Так, за О.Л. Івановим віспоподібний парапсоріаз є одним з різновидів поліморфного дермального васкуліту. Стосовно інших варіантів (краплеподібного, ліхеноїдного та бляшкового парапсоріазів) це питання дискутується.

© О.О. Яворовська, 2004.

Загальновідомо, що процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) є важливою ланкою в регуляції біохімічних процесів, які відбуваються в організмі, беручи участь у розвитку запальних реакцій, що в умовах фізіологічного реагування прискорюють елімінацію чинника запалення. Одночасно за глибиною і якістю змін жирнокислотного спектра можна робити висновки щодо характеру і ступеня ураження.

Таким чином, поглиблене порівняльне дослідження ланок патогенезу цієї гетерогенної групи захворювань надасть можливість більш ефективно коректувати хворобливий стан.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для встановлення клініко-біохімічних особливостей при парапсоріазах досліджували сироватки крові 53 хворих, з яких 28 осіб склали основну групу (групу дослідження) і 25 – групу порівняння.

До біохімічного дослідження залучили хворих на парапсоріаз краплеподібний (8 осіб), парапсоріаз гострий віспоподібний (4), парапсоріаз бляшковий (14), парапсоріаз ліхеноїдний (2), разом – 28. Для порівняння добирали пацієнтів з різними варіантами васкулітів (ангіїтів) шкіри, такими, як алергічний васкуліт (11), екзематозна пурпура Дукаса-Капетанакіса (1), хвороба Шамберга (4), ліхеноїдна пурпура (2), пурпура Майоккі (2), вузлувата еритема (5), разом – 25 хворих.

Досліджували сироватку крові хворих, діагноз яким було встановлено на підставі попередніх клінічних і морфологічних методів.

Контрольну групу склали 20 осіб без ознак ураження шкіри і внутрішніх органів відповідного віку і статі.

Для дослідження жирнокислотного спектра ліпідів вранці натще з кубітальної вени брали 5 мл крові, яку центрифугували для отримання сироватки.

Екстракцію ліпідів здійснювали за відомим методом Фолча. Пробу сироватки крові кількістю 0,8-1,0 мл переносили в пробірку об'ємом 10 мл з притертою пробкою, додавали 5-7 мл хлороформ-метанолової суміші (у співвідношенні 2:1) і тримали 30 хв у холодильнику. Для кращого розділення фаз додавали 1 мл дистильованої води. Далі відбирали хлороформну нижню фазу піпеткою Пастера. Для повної реакції етап екстракції повторювали двічі. Об'єднані хлороформні екстракти концентрували шляхом випарювання до сухості в потоці азоту при 45 °С на водяній бані.

Гідроліз та метилювання вищих жирних кислот (ЖК) проводили двічі гексан-ефірною сумішшю (у співвідношенні 1:1) в кількості 5 мл. Для розділення фаз додавали 1 мл дистильованої води. Відбирали верхню фазу піпеткою Пастера. Об'єднані екстракти випарювали до сухості в потоці азоту при 45 °С на водяній бані. Сухий осад розчиняли у 40-50 мл чистого гексану і вводили у випарник хроматографа в кількості 5 мкл.

Газохроматографічний аналіз спектра ЖК ліпідів здійснювали на газовому хроматографі серії "Цвет-500" в ізометричному режимі з полум'яно-іонізаційним детектором. За таких умов для визначення спектра ЖК ліпідів використовували скляну колонку (розміром 2 м×0,3 см), яка заповнена фазою 5 % ПЕГС на хроматині N-AW HMDS (зернистість – 0,125-0,160 мм), температура колонки – 180 °С, температура випарника – 250 °С, витрата азоту і водню – 45 мл/хв, повітря – 200 мл/год, швидкість діаграмної стрічки – 240 мм/год, чутливість шкали – 10-7 А, об'єм проби, що вводиться, – 3-5 мкл, тривалість аналізу – 30 хв.

Кількісну оцінку спектра ЖК ліпідів проводили методом нормування площ, питому вагу кислот визначали у відсотках. Похибка визначення становила 10 %. Отримані дані досліджень обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати проведених нами біохімічних досліджень представлено в таблиці 1.

При аналізі результатів біохімічного дослідження хворих основної групи було поділено на дві частини. До 1-ї ввійшли пацієнти з

бляшковим парапсоріазом. Іншу частину склали ті особи, кому попередньо було встановлено діагнози: гострий віспоподібний парапсоріаз, краплеподібний парапсоріаз, ліхеноїдний парапсоріаз.

У групі хворих з бляшковим парапсоріазом виявили достовірні розбіжності з усіма іншими клінічними формами парапсоріазів. Так, у 1-й групі, до якої входили пацієнти з бляшковим парапсоріазом, вміст жирних кислот $C_{14:0}$, $C_{16:0}$, $C_{18:0}$, $C_{18:1}$, $C_{18:2}$, $C_{20:4}$ у сироватці крові становив (5,3±0,5); (30,2±1,4); (9,8±0,9); (15,4±1,0); (26,7±1,3); (12,6±0,8) % відповідно. У контролі цей показник (від $C_{16:0}$ до $C_{20:4}$) був таким: (41,9±0,9); (15,1±1,1); (24,2±0,6); (16,0±1,4); (2,8±0,3) % відповідно. Різниця становила за сумою насичених ЖК складала 20 %, за сумою ненасичених ЖК – 25 % (з достовірністю $p < 0,05$ кожної порівняно з контролем), а за сумою поліненасичених ЖК показник 1-ї групи перевищив показник контрольної більш ніж удвічі.

У 2-й групі, до якої ввійшли хворі на краплеподібний парапсоріаз, гострий віспоподібний парапсоріаз, ліхеноїдний парапсоріаз, вміст жирних кислот $C_{14:0}$, $C_{16:0}$, $C_{18:0}$, $C_{18:1}$, $C_{18:2}$, $C_{20:4}$ становив (10,8±0,7); (34,9±0,7); (10,1±0,7); (17,5±1,6); (18,6±0,8); (8,1±0,9) % відповідно. За сумою насичених і ненасичених ЖК їх склад достовірно від контролю не відрізнявся (4 і 2 % відповідно), а за сумою поліненасичених ЖК перевищував показник контролю на 42 % (з достовірністю $p < 0,05$).

У групі порівняння, до якої ввійшли хворі з різними варіантами поверхневих васкулітів шкіри, зміни жирнокислотного спектра були тотожними змінам у 2-й групі, що є ознакою запальної природи хворобливого стану в обох групах.

При порівнюванні досліджуваних показників у хворих 1-ї та 2-ї груп також виявлено суттєві відмінності: якщо у 1-й групі були порушені всі показники, то в 2-й суттєві зміни відбувалися лише у рівнях $C_{14:0}$, $C_{18:0}$, $C_{18:1}$, $C_{20:4}$ та сумі поліненасичених ЖК.

Отже, в 1-й групі спостерігаються істотні зміни як у кількості, так і в якісному складі ЖК, що загалом відображає хронічний торпідний характер змін і вказує на глибокі порушення адаптаційних механізмів. Зміни жирнокислотного спектра в 2-й групі свідчать про активацію ПОЛ та транзиторні порушення метаболізму, які можуть виникати в організмі внаслідок розвитку запальних явищ токсикоінфекційної природи. Такі результати узгоджують з результатами біохімічних досліджень при ангіїтах інших авторів [1].

Таблиця 1 – Жирнокислотний спектр ліпідів сироватки крові (%)

Назва ЖК	Група хворих			
	Досліджувана група		Група порівняння, n=25	Контроль, n=20
	1-ша група, n=14	2-га група, n=14		
C _{14:0}	5,3±0,5	10,8±0,7	10,8±0,7	–
C _{16:0}	30,2±1,4*	34,9±0,7*	34,9±0,7*	41,9±0,9
C _{18:0}	9,8±0,9*	10,1±0,7*	10,1±0,7*	15,1±1,1
C _{18:1}	15,4±1,0*	17,5±1,6*	17,5±1,6*	24,2±0,6
C _{18:2}	26,7±1,3*#	18,6±0,8	18,6±0,8	16,0±1,4
C _{20:4}	12,6±0,8*	8,1±0,9*	8,1±0,9*	2,8±0,3
Σ Насич ЖК	45,3±2,2*#	55,8±2,2	55,8±2,2	57,0±1,3
Σ Ненасич ЖК	54,7±2,2*#	44,2±2,2	44,2±2,2	43,0±1,3
Σ ПНЖК	39,3±1,9*	26,7±1,6*	26,7±1,6*	18,8±1,4

Примітка. * – p<0,05 порівняно з контролем; # – p<0,05 порівняно з 2-ю групою та групою порівняння.

Таким чином, усі чотири варіанти парапсоріазів за біохімічними змінами можна поділити на дві групи: 1) бляшковий парапсоріаз, 2) інші парапсоріази – краплеподібний, ліхеноїдний, гострий віспоподібний.

ВИСНОВКИ. 1. До парапсоріазів відносять два розбіжні за біохімічними змінами стани.

2. Результати проведених біохімічних досліджень дозволяють диференціювати лише дві форми парапсоріазів: бляшковий та всі інші.

3. Зміни при всіх, крім бляшкового, пара-

псоріазах тотожні змінам при поверхневих васкулітах (ангіітах) шкіри.

4. Більш поглиблені імунологічне, морфологічне та ультраструктурне дослідження дозволять, на нашу думку, підтвердити таке припущення.

5. При бляшковому парапсоріазі зміни жирнокислотного спектра мають декомпенсований характер і свідчать про більш глибокі порушення адаптаційних систем організму, що зумовлює необхідність подальшого детального вивчення ланок патогенезу цього захворювання.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ежова М.Н., Вербенко Е.В., Тишенина Р.С. Изучение состояния перекисного окисления липидов в крови больных васкулитами и спонтанным панникулитом и их коррекция антиоксидантами // Вестн. дерм. и венеролог. – 1987. – № 6. – С. 14-17.

2. Лезвинская Е.М., Ларина Н.К. К вопросу о возможности развития злокачественной лимфомы

кожи у больных доброкачественными дерматозами // Рос. журн. кож. и вен. бол. – 1999. – № 8. – С. 8-10.

3. Разнатовский И.М. Эволюция взглядов на группу парапсориазов Брока // Вестн. дерм. и венеролог. – 1976. – № 2. – С. 41-46.

4. Arndt G. Zur Frage uber Paraproziasis // Arch. Derm. Syph. (Berl). – 1910. – **100**. – S. 7-104.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СПЕКТРА СЫВОРОТОК КРОВИ ПРИ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВАСКУЛИТАХ КОЖИ И ПАРАПСОРИАЗАХ

Е.А. Яворовская

КИЕВСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ ИМ. П.Л. ШУПИКА

Резюме

Приведены результаты газохроматографического анализа жирнокислотного спектра сывороточных липидов у больных парапсориазами и разными формами поверхностных васкулитов кожи. При

ретроспективном делении больных, учитывая результаты газохроматограмм, установлена однонаправленность изменений метаболизма жирных кислот в зависимости от нозологической единицы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: жирнокислотный спектр сывороточных липидов, параспориазы, васкулиты кожи.

COMPARATIVE ESTIMATION OF CHANGES OF FATTY-ACID SPECTRUM OF BLOOD SERUM AT SUPERFICIAL CUTANEOUS VASCULITES AND PARAPSORIASSES

O.O. Yavorovska

KYIV MEDICAL ACADEMY OF POSTGRADUATE EDUCATION BY P.L. SHUPYK

Summary

The results of gas-chromatographic analysis of blood serum lipid fatty-acid spectrum in patients with parapsoriasis and various forms of superficial cutaneous vasulites are presented. At retrospective division of patients taking into consideration the results of gas-chromatograms, it is established the monodirectioning of fatty-acid metabolism changes depending on nozologic unit.

KEY WORDS: **blood serum fatty-acid spectrum, cutaneous vasculites, parapsoriasis.**

Отримано 24.05.2004 р.

Адреса для листування: О.О. Яворовська, Київська медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, кафедра дерматовенерології, вул. Островського, 48, Київ, 03035, Україна.

ВИДАВНИЦТВО "УКРМЕДКНИГА"

Передплатні видання Тернопільського державного медичного університету 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

КОРЕКЦІЯ ГІСТИДИНАТОМ МІДІ ПОРУШЕНЬ ЗАХИСНИХ СИСТЕМ ОРГАНІЗМУ, ВИКЛИКАНИХ ВПЛИВОМ ПОЄДНАНОГО ВВЕДЕННЯ НІТРИТІВ ТА СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Л.Л. Головка

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

У модельному дослідженні та в експерименті на білих щурах вивчено ефективність застосування гістидинату міді для корекції порушень, викликаних поєднаною дією солей кадмію, свинцю та нітриту натрію. Встановлено, що гістидинат міді дозозалежно пригнічує ініційовану сульфатом заліза (II) хемілюмінесценцію. При введенні його ураженим тваринам відмічено активацію глутатіонової ланки антиоксидантної системи, зростання концентрації церулоплазміну, зниження вмісту продуктів ендогенної інтоксикації та нормалізацію активності мембранотропних ферментів гепатоцитів на фоні зростання активності процесів гідроксилування у мікросомах печінкових клітин. Зроблено висновок про ефективність гістидинату міді за умов поєднаної дії солей кадмію, свинцю та нітритів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: інтоксикація, солі кадмію, солі свинцю, нітрит натрію, поєднана дія, гістидинат міді.

ВСТУП. Зростання техногенного навантаження на довкілля супроводжується комбінованою дією на організм великої кількості полютантів, що несе в собі ризик виникнення екологічно залежних мультифакторних хвороб [5, 6, 17, 18]. У попередніх роботах [2] нами було показано потенціювання токсичної дії на організм за поєднаного введення солей кадмію, свинцю та нітритів. Токсична дія переважної більшості ксенобіотиків, як показано дослідженнями багатьох авторів [6, 10, 20], супроводжується активацією процесів ліпідної пероксидації та пригніченням різних ланок антиоксидантної системи. Це зумовлює пошук нових терапевтичних засобів з антиоксидними властивостями. Аналіз наукової літератури, міжнародних фармакопей та реєстрів лікарських засобів засвідчує підвищення уваги до дослідження металів змінної валентності та металовмісних комплексів. Разом з тим, компонентний склад таких препаратів майже традиційно обмежується іонними сполуками мікроелементів – простими солями та оксидами [4]. Шляхом до підвищення біодоступності та нешкідливості металовмісних засобів може бути заміна іонних сполук мікроелементів

© Л.Л. Головка, 2004.

їх комплексами з органічними лігандами, зокрема амінокислотами [7]. Заслужують уваги застосування металокомплексів α -карнозину в медицині. Дипептид α -карнозин може утворювати стабільні комплекси з деякими біологічно важливими іонами металів, такими як цинк та мідь. Було показано, що комплекс Cu(II) -карнозин має антиоксидну активність, яка відмічалась і в системах комплексів карнозину з Co(II) і Zn(II) [1, 12].

Отже, наявність антиоксидних властивостей деяких металокомплексів обумовлює доцільність використання їх як фармакологічних засобів, в тому числі за умов токсичного впливу ксенобіотиків.

Мета дослідження: вивчити антиоксидну активність гістидинату міді *in vitro* та його вплив на деякі показники, що характеризують активність процесів детоксикації в організмі білих щурів за умов комбінованого впливу солей кадмію, свинцю та нітритів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження антиоксидної активності гістидинату міді проводили хемілюмінесцентним методом на моделі ініційованої сульфатом заліза (II) хемілюмінесценції (ІЗХЛ). Металокомплекс синтезо-

вано на кафедрі медичної хімії з гістидину та гідроксиду міді, які брали в еквімолярних концентраціях.

Для вивчення впливу інгібіторів вільно-радикальних реакцій на ІЗХЛ використовували суспензію жовткових ліпопротеїнів (ЖЛП) при наявності родаміну Ж. Жовткові ліпопротеїни одержували шляхом розведення жовтка курячого яйця 1:10 дистильованою водою. В кювету поміщали суспензію ЖЛП в об'ємі 0,5 мл, що містила 5 мг фосфоліпідів; 0,1 мл 1М розчину родаміну Ж і доводили об'єм до 6,6 мл фосфатним буфером (25 мМ KH_2PO_4) рН 7,7. Для ініціації хемілюмінесценції вводили 0,5 мл 25 мМ розчину FeSO_4 . Кінцева концентрація фосфоліпідів складала 5 мкМ, родаміну Ж – 14 мкМ, іонів Fe^{2+} – 1,8 мМ.

Визначали світлосуму спалаху залізоініційованої хемілюмінесценції без додавання досліджуваних препаратів (контроль) та при наявності одного з них в кінцевих концентраціях від 1 до 10 мМ. Про антиоксидні властивості гістидину та гістидинату міді судили за ступенем інгібування ними світлосуми ЗХЛ.

Загальну антиоксидну активність (АОА) препаратів виражали в % і визначали за формулою:

$$\text{АОА} = 1 - (S_{\text{ЗХЛ}(i)} / S_{\text{ЗХЛ}}) \times 100 \%,$$

де $S_{\text{ЗХЛ}}$ – світлосума ініційованої залізом хемілюмінесценції (ІЗХЛ); $S_{\text{ЗХЛ}(i)}$ – світлосума інгібованої препаратами ІЗХЛ.

У другій частині нашої роботи проводилися досліди на 42 білих нелінійних щурах-самцях масою 170-200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Токсичне ураження викликали шляхом одноразового внутрішньо-шлункового введення тваринам водного розчину хлориду кадмію в дозі 6 мг/кг маси тіла, хлориду свинцю в дозі 6,5 мг/кг ($1/15 \text{LD}_{50}$) та натрію нітриту в дозі 70 мг/кг ($1/3 \text{LD}_{50}$). З метою корекції викликаних порушень вводили гістидинат міді в дозі 0,98 мг/кг внутрішньо-шлунково щоденно протягом всього терміну експерименту. При цьому виходили з біотичної дози міді для білих щурів.

Піддослідних тварин поділили на 3 групи: I – інтактні; II – уражені хлоридом кадмію, свинцю та нітритом натрію; III – уражені хлоридом кадмію, свинцю та нітритом натрію, яким проводилась корекція гістидинатом міді. Декапітацію під легким ефірним наркозом проводили на 1-у, 3-ю, та 5-у доби від моменту інтоксикації. Для дослідження використовували цільну кров, плазму крові та печінку. Стан антиоксидантної системи оцінювали за активністю глутатіонпероксидази (ГПО) та глутатіонредуктази (ГР), які визначали за методами, описаними у роботі [11], концентрацією від-

новленого глутатіону (Г-SH) за методом, запропонованим Ellman G. L. [17], та церулоплазміну (ЦП) [9]. Оцінку стану мікросомальної детоксикуючої системи проводили за активністю N-деметилування диметиланіліну (N-ДМА) та p-гідроксилування аніліну (p-ГА) [8] в мікросомах гепатоцитів, виділених методом низькошвидкісного центрифугування [16]. Визначали також показники ендogenousної інтоксикації – еритроцитарний індекс інтоксикації (ЕІІ) за методом О.О. Тогайбаєва та співавт. [14] та вміст молекул середньої маси у плазмі крові (МСМ), як описано у роботі В.В. Оськіна та співавт. [15]. З метою оцінки стану мембран гепатоцитів визначали активність аспартат-(АсАТ) та аланін-амінотрансферази (АлАТ), а також кислоти (КФ) та лужної (ЛФ) фосфатази [13] у плазмі крові піддослідних тварин.

Отримані результати обробляли статистично з використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як видно з рисунка 1, гістидинат міді має виражену антиоксидну активність, яка підвищується паралельно зі збільшенням його концентрації в модельній системі. Результати, наведені у табл. 1 вказують на те, що інтоксикація солями кадмію, свинцю та нітритом натрію приводила до достовірного зниження досліджуваних нами компонентів антиоксидної системи. Так, активність ГПО на першу добу становила 35,5 %, ГР – 46,6 %, вміст ЦП – 57,8 % від аналогічних показників здорових тварин. На 3-тю і 5-ту доби від моменту інтоксикації досліджувані параметри залишались достовірно нижчими від норми.

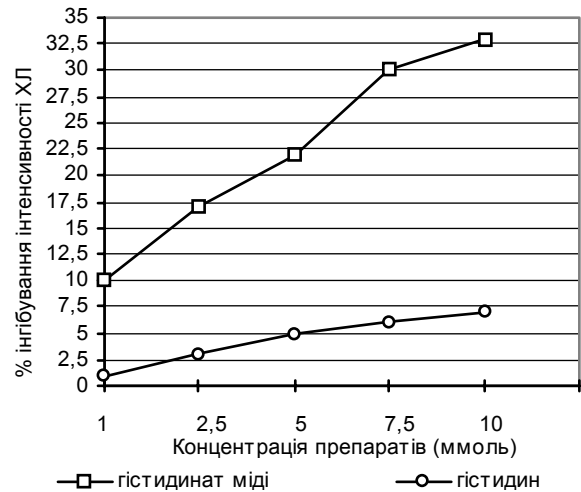
Отримані результати свідчать також про достовірне зниження активності монооксигеназної системи ендоплазматичного ретикулуму. Так, активність N-деметилази на 1-шу добу експерименту становила 65,1 %, p-гідроксилази – 61 % від норми з подальшим їх зниженням до 5-ї доби. Пригнічення окиснювальних процесів у мікросомах гепатоцитів уражених тварин приводить до того, що в організмі накопичуються токсичні продукти метаболічних перетворень, котрі не в змозі інтактивуватися. Про це свідчить зафіксоване нами достовірне зростання еритроцитарного індексу інтоксикації та молекул середньої маси.

Враховуючи те, що ЕІІ відображає ступінь ушкодження мембран еритроцитів, які можна розглядати як прототип плазматичних мембран інших клітин, можна стверджувати, що кадмій та свинець мають мембранопшкоджувальну дію, на що вказують і інші автори [10, 20], а нітрити потенціюють пошкоджувальну дію

кадмію та свинцю на клітинні мембрани. Для отримання повнішої інформації про стан та функції плазматичних мембран ми вивчали також активність мембраноспецифічних ферментів – лужної фосфатази, яка локалізована у мембранах, та амінотрансфераз – цитозольних ферментів, підвищення активності яких у плазмі вказує на uszkodження мембран. Проведені нами дослідження підтвердили потенціювання нітритом натрію мембранотропної дії кадмію та свинцю. На це вказує достовірне зростання у плазмі крові активності ЛФ, АлАТ та АсАТ. Максимальні зміни спостерігались на 3-ю добу від моменту введення отруту.

Отже, поєднане введення нітриту натрію та солей кадмію і свинцю має негативний вплив на захисні системи організму, що приводить до вираженого порушення їх функцій.

Введення гістидинату міді на фоні інтоксикації солями кадмію, свинцю та нітриту натрію в значній мірі сприяло нормалізації досліджуваних нами показників. На це вказує достовірне зростання на першу добу від моменту інтоксикації активності ферментів глутатионової ланки антиоксидантної системи (зокрема, ГПО на 72,6 %, ГР – 52,7 % від рівня уражених тварин). Спостерігалось також збільшення концентрації відновленого глутатіону на 16,1 % та церулоплазміну – на 33,6 %.



Примітки: 1. Кожна точка на хемілюмінограмі є середнім арифметичним з 6-8 визначень.

2. * – різниця достовірна відносно контролю ($p < 0,05$).

Рис. 1. Залежність ступеня інгібування інтенсивності ініційованої залізом хемілюмінесценції від концентрації гістидину та гістидинату міді в модельній системі.

У подальші терміни експерименту ці показники продовжували зростати, наближаючись до рівня інтактних тварин на 5-у добу. Нами зафіксовано також часткове відновлення активності мітросомальних монооксигеназ, причому максимальне зростання відносно уражених тварин зафіксовано на 3-ю добу від моменту

Таблиця 1 – Вплив гістидинату міді на показники захисних систем білих щурів, уражених солями кадмію, свинцю та нітритом натрію ($M \pm m$)

Показник	Біологічна рідина	Інтактні тварини, n=6	Тварини, уражені хлоридом кадмію, свинцю та нітритом натрію, n=18			Тварини, яким на фоні ураження хлоридом кадмію, свинцю та нітритом натрію вводився гістидинат міді, n=18		
			1-а доба	3-я доба	5-а доба	1-а доба	3-я доба	5-а доба
ГПО, ммоль·хв ⁻¹ ·кг ⁻¹	Гомогенат печінки	23,32±0,26	8,29±0,12*	11,65±0,16*	12,38±0,21*	14,31±0,18*	14,63±0,19*	19,42±0,23*
ГР, ммоль·хв ⁻¹ ·кг ⁻¹	Гомогенат печінки	24,31±0,39	11,34±0,14*	11,57±0,17*	12,65±0,22*	17,32±0,16*	18,73±0,19*	21,33±0,31*
Г-SH, ммоль·кг ⁻¹	Гомогенат печінки	3,15±0,03	1,68±0,02*	1,71±0,02*	1,77±0,03*	1,95±0,03*	2,59±0,03*	2,87±0,04*
ЦП, мг·л ⁻¹	Плазма крові	229,2±7,5	139,7±8,1*	123,5±7,6*	114,5±7,1*	186,7±11,1*	193,7±9,8*	214,3±9,2*
N-ДМА, ммоль·хв ⁻¹ ·кг ⁻¹	Мітросоми гепатоцитів	8,11±0,17	5,28±0,09*	5,17±0,08*	5,21±0,09*	5,73±0,09*	6,89±0,11*	7,55±0,09*
p-ГА, ммоль·хв ⁻¹ ·кг ⁻¹	Мітросоми гепатоцитів	0,77±0,04	0,47±0,02*	0,43±0,02*	0,46±0,01*	0,55±0,03	0,62±0,02*	0,66±0,02*
ЕП, %	Кров	35,8±2,1	81,4±2,6*	85,3±1,8*	81,7±2,3*	72,3±2,4*	66,1±2,8*	51,6±2,5*
МСМ, ум.од.	Плазма крові	0,504±0,032	0,789±0,021*	0,797±0,019*	0,792±0,023*	0,703±0,025*	0,685±0,029*	0,612±0,028*
АлАТ, ммоль·год ⁻¹ ·л ⁻¹	Плазма крові	0,78±0,03	1,18±0,03*	1,39±0,04*	1,35±0,03*	1,12±0,03	1,07±0,04*	0,95±0,03*
АсАТ, ммоль·год ⁻¹ ·л ⁻¹	Плазма крові	0,53±0,04	0,71±0,03*	0,80±0,04*	0,74±0,03*	0,68±0,03	0,65±0,04*	0,62±0,03*
КФ, ммоль·год ⁻¹ ·л ⁻¹	Плазма крові	0,28±0,02	0,78±0,04*	0,81±0,03*	0,73±0,03*	0,61±0,03*	0,58±0,03*	0,42±0,03*
ЛФ, ммоль·год ⁻¹ ·л ⁻¹	Плазма крові	0,42±0,03	0,81±0,04*	0,92±0,05*	0,87±0,04*	0,72±0,03	0,65±0,04*	0,57±0,03*

Примітки: * – різниця достовірна відносно інтактних тварин ($P < 0,05$); # – різниця достовірна відносно тварин, уражених нітритом натрію, солями кадмію та свинцю ($P < 0,05$).

інтоксикації (відповідно, 33,2 % N-ДМА та 44,2 % р-ГА). Інтенсифікація окиснювальних процесів у мембранах ендоплазматичного ретикулуму спричинилась до зниження вмісту речовин – маркерів ендогенної інтоксикації. На це вказує зменшення показника еритроцитарного індексу інтоксикації на 36,9 % та МСМ на 22,7 % від показників уражених тварин до 5-ї доби від моменту інтоксикації. Зниження системної концентрації токсичних речовин впливає на стан плазматичних мембран. Про це свідчить достовірне зниження у плазмі крові активності амінотрансфераз, причому активність АлАТ знижувалась значно інтенсивніше (до 70,4 % від рівня уражених тварин), ніж АлАТ (до 83,8 %), Нами зафіксовано також зниження

активності кислої та лужної фосфатаз, відповідно, на 42,5 та 34,5 %.

Таким чином, введення гістидинату міді позитивно впливає на стан захисних систем організму, порушених поєднаним введенням нітриту натрію та солей кадмію і свинцю .

ВИСНОВКИ. 1. Поєднане введення нітриту натрію, хлоридів кадмію та свинцю супроводжується порушенням функцій антиоксидантної, мікосомальної систем, зростанням ендогенної інтоксикації, підвищенням проникності плазматичних мембран.

2. Гістидинат міді частково відновлює функції захисних систем організму, порушені поєднаним впливом нітриту натрію, хлоридів кадмію та свинцю.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бэран Э.Х. Металлокомплексы карнозина // Биохимия. – 2000. – И, вып. 7. – С. 928-937.
2. Гонський Я.І., Головка Л.Л. Стан захисних систем організму за умов поєднаної дії солей кадмію та свинцю // Мед. хімія. – 2004. – 6, № 1. – С.10-13.
3. Горячковский А.М. Справочное пособие по клинической биохимии. – Одесса: Ока, 1994. – 415 с.
4. Губский Ю.И., Кузьменко А.И., Волошенко Т.Г. Комплексы Cu(2+) как ингибиторы свободнорадикального окисления липидов // Укр. биохим. журн. – 1993. – № 1. – С. 83-88.
5. Губский Ю.И., Долго-Сабуров В.Б., Храпак В.В. Химические катастрофы и экология. – К.: Здоров'я, 1993. – 224 с.
6. Егоров Ю. Л., Кириллов В. Ф. Экологическая значимость и гигиеническая регламентация свинца и кадмия в различных средах (обзор) // Медицина труда и пром. экология. – 1996. – № 10. – С. 18- 25.
7. Аминокислоты в медицине / В.И. Западнюк, Л.П. Купраш, М.У. Заика, И.С. Безверхая – К.: Здоров'я, 1982. – 198 с.
8. Карузина И.И., Арчаков А.И. Выделение микросомной фракции печени и характеристика ее окислительных систем // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 49-62.
9. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – 311 с.
10. Коршун М.М., Колесова Н.А., Веремій М.І. Експериментальне вивчення механізмів комбінованої дії малих доз пестицидів, нітратів, солей свинцю та кадмію // Современные проблемы токсикологии. – 2001. – № 3. – С. 46-50.
11. Кругликова Г.О., Штутман Ц.М. Глутатіонпероксидазна та глутатіонредуктазна активність печінки щурів після введення селеніту натрію // Укр. біохім. журн. – 1976. – 48, № 2. – С. 227-233.
12. Матсукура Т., Танака Х. Применение комплекса L-карнозина с цинком в медицине // Биохимия. – 2000. – 65, вып. 7. – С. 961-967.
13. Методические указания по применению унифицированных клинических лабораторных методов исследования / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1973. – 245 с.
14. Метод определения эндогенной интоксикации / А.А. Тогайбаев, А.В. Кургузкин, И.В. Рикун, Р.М. Карибджанова // Лаб. дело. – 1988. – № 9. – С. 22-24.
15. Оськина В.В., Чекалина К.И., Габриэлян Н.И. Среднемолекулярные пептиды спинномозговой жидкости при гнойных менингитах. – Лаб. дело. – 1987. – № 2. – С. 23-25.
16. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований. – Л.: Изд. ЛГУ, 1982. – 168 с.
17. Сердюк А.М. Навколишнє середовище і здоров'я населення України // Довкілля і здоров'я. – 1998. – № 4. – С. 2-6.
18. Трахтенберг И.М. Приоритетные аспекты проблем медицинской экологии в Украине // Современные проблемы токсикологии. – 1998. – №1. – С. 5-8.
19. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – 82, № 1. – P. 70-77.
20. Eybl V., Kotyzov, Koutensky J., Jones M. M., Singh P. K. Effect of cadmium chelating agents on organ cadmium and trace element levels in mice // Analyst. – 1998. – 123, № 1. – P. 25-26.

КОРРЕКЦИЯ ГИСТИДИНАТОМ МЕДИ НАРУШЕНИЙ ЗАЩИТНЫХ СИСТЕМ ОРГАНИЗМА, ВЫЗВАННЫХ ВЛИЯНИЕМ СОЧЕТАНОГО ВВЕДЕНИЯ НИТРИТОВ И СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Л.Л. Головко

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

В модельном исследовании и в эксперименте на белых крысах изучено эффективность применения гистидината меди для коррекции нарушений, вызванных сочетанным действием солей кадмия, свинца и нитрита натрия. Установлено, что гистидинат меди дозозависимо угнетает инициированную сульфатом железа (II) хемилюминесценцию. При введении его пораженным животным отмечено активацию глутатионового звена антиоксидантной системы, возростание концентрации церулоплазмينا, снижение содержания продуктов эндогенной интоксикации и нормализацию активности мембранотропных ферментов гепатоцитов на фоне возростания активности процессов гидроксирования в микросомах печеночных клеток. Сделан вывод про эффективность гистидината меди при условии сочетанного действия солей кадмия, свинца и нитритов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **интоксикация, соли кадмия, соли свинца, нитрит натрия, сочетанное действие, гистидинат меди.**

CORRECTION BY COPPER HISTIDINATE OF VIOLATIONS OF ORGANISM PROTECTIVE SYSTEMS CAUSED BY INFLUENCE OF COMBINED INTRODUCTION OF NITRITES AND SALTS OF HEAVY METALS

L.L. Holovko

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

In the model research and in the experiment on white rats the efficiency of application of copper histidinate for the correction of violations caused by the combined action of cadmium salts, lead and nitrite sodium was studied. It was determined that copper histidinate dose-dependently depresses hemiluminescence initiated by iron sulfate (II). In case of its introduction to the damaged animals, the activation of glutathion link of antioxidant system, increase of ceruloplasmin concentration, reducing of the contents of endogenous intoxication products and normalization of activity of hepatocyte membrane enzymes against a background of growth of activity of hydroxilation processes in microsomes of hepatic cells was noticed. The conclusion about the efficiency of copper histidinate in the conditions of combined action of cadmium salts, lead and nitrites was made.

KEY WORDS: **intoxication, cadmium salts, lead salts, sodium nitrite, combined action, copper histidinate.**

Отримано 03.06.2004 р.

Адреса для листування: Л.Л. Головко, Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

ДОСЛІДЖЕННЯ БІЛКОВО-АМІНОКИСЛОТНОГО ТА МІНЕРАЛЬНОГО КОМПЛЕКСІВ ЗЕРНА ЧУМИЗИ

З.І. Омельченко, В.С. Кисличенко
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Проведено дослідження білково-амінокислотного та мінерального комплексів зерна чумизи. Встановлено наявність 17 амінокислот, 8 з яких є незамінними, та визначено кількісний вміст білка. У досліджуваній сировині було виявлено 27 мінеральних елементів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: зерно чумизи, амінокислоти, білок, якісний склад, кількісне визначення, мікро- та макроелементи.

ВСТУП. Мишій італійський (чумиза) – *Setaria italica* L. – належить до родини злакових Gramineae, роду мишіїв, виду головчастого, щетинистого або італійського проса, підвиду максима (*S. italica* ssp. *maxima* Alef.).

Setaria italica – злакова культура, одна з найстаріших хлібних рослин Східної Азії. Багаторічний досвід вирощування показує, що вона є цінною зерною та кормовою культурою з високими харчовими і смаковими якістьми. Ви-користовуються практично всі частини рослини від коріння до мітлички із зерном. Із зерна одержують крупу, муку, олію, воно є вихідною сировиною при виготовленні пива, спирту та інших продуктів. Продукти із *Setaria italica* є високопоживними завдяки значному унікальному вмісту біологічно активних речовин (білків, жирів полісахаридів, вітамінів, флавоноїдів, амінокислот, мікро- та макроелементів), які дуже позитивно впливають на організм людини. Встановлено, що люди, які займаються фізичною працею, почувають себе більш працездатними, якщо споживають продукти з чумизи, порівняно з іншими продуктами рослинного походження, хворі, які харчуються чумизою, швидше видужують. Недарма ж вона є однією з основних продовольчих культур Китаю і багатьох інших країн [1, 2, 3].

Останнім часом усе більша увага приділяється пошуку нових джерел лікарської сировини рослинного походження, що допомогатимуть запобігти або вилікувати різноманітні хвороби. Метою нашого дослідження було вивчення білково-амінокислотного та мінерального комплексів, визначення їх кількісного вмісту в районованому сорті чумизи Дніпров-

ська, наданому ТОВ "Консул" (м. Дніпродзержинськ), для стандартизації сировини.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктом дослідження було зерно чумизи. Білки – гетеробіополімери, мономерами яких є різні за структурою амінокислоти. Наявність вільних амінокислот встановлювали у водно-спиртових екстрактах за позитивною нінгідриновою реакцією [4, 7, 8]. Приблизно 10 г (точна наважка) сировини, заздалегідь подрібненої до розміру часток 0,5 мм, екстрагували 50 % етиловим спиртом порціями по 100 мл 3 рази на киплячій водяній бані. Спирт видаляли шляхом випарювання, залишок переносили у ділильну ліжку й обробляли хлороформом 3 рази по 50 мл. Очищений хлороформом витяг, переносили в мірну колбу місткістю 25 мл і доводили об'єм до мітки 50 % етиловим спиртом. Для очищення витяг пропускали через іонообмінник. Якісний аналіз проводили за допомогою паперової (ПХ) та тонкошарової (ТШХ) хроматографії в різних системах розчинників. 0,05 мл очищеного витягу наносили на хроматографічний папір Filtrak FN-3 (ПХ) поруч з достовірними зразками амінокислот і хроматографували в системі розчинників "н-бутанол – оцтова кислота – вода (БОВ) (4:1:2) та на пластинках "Silufol" (ТШХ) в системах розчинників "хлороформ – етиловий спирт" (9:1) та "етиловий спирт – аміак" (8:2). Після висушування хроматограму обробляли 0,2 % розчином нінгідрину в ацетоні з подальшим нагріванням. Амінокислоти ідентифікували за темно-фіолетовим забарвленням плям і визначали їх R_f.

Кількісний вміст амінокислот визначали на автоматичному аналізаторі амінокислот AAA-881 (Чехословаччина). Якісне визначення

амінокислот проводили за розташуванням піків на хроматограмі, кількісне – за площею відповідного піку за формулою:

$$S = \frac{S_{\text{зраз.}} \cdot M \cdot V}{S_{\text{ст.}} \cdot H}$$

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

Вміст триптофану визначали хімічним методом (методом Смирнкової-Конникової) [8].

Для визначення кількісного вмісту загального білка використовували стандартний метод Лоурі в модифікації Сяткіна [8]. Отримані дані наведено в таблиці 1.

Макро- та мікроелементи відіграють виняткову роль у життєдіяльності людини. Мікроелементи впливають на всмоктування, секрецію, виведення шлаків, забезпечують кислотно-основну рівновагу (калій, натрій, кальцій), беруть участь у процесах кровотворення (залізо, мідь). Недостатня кількість або надлишок мікроелементів, їх дисбаланс викликають порушення обміну речовин і захворювання, які мають загальну назву – мікроелементози [6].

Для вивчення якісного складу і кількісного вмісту елементів було використано метод атомно-емісійної спектроскопії. Пробу випарювали з кратерів графітових електродів у розряді дуги змінного струму силою 16 А при експозиції 60 с. Як джерело збудження спектрів було застосовано ІВС-28. Спектри реєстрували на фотоплівці за допомогою спектрографа ДФС-8 з дифракційною решіткою 600 штр/мм та трилінзовою системою освітлення щільності.

Фотометрували лінії спектрів при довжині хвилі від 240 до 347 нм у пробах порівняно зі стандартними зразками суміші мінеральних елементів за допомогою мікрофотометра МФ-4 [5, 6]. Результати елементного аналізу наведені у таблиці 2.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Якісний склад та кількісний вміст амінокислот і білка наведено в таблиці 1. Таким чином, при визначенні білково-амінокислотного складу і кількісного вмісту амінокислот у зерні чумизи виявлено 17 амінокислот, 8 з яких є незамінними, та визначено кількісний вміст білка, який складає 14,78 мг/100 г.

Як видно з таблиці 2, у досліджуваній сировині було виявлено 27 мінеральних елементів. У незначній кількості містяться елементи Cd, As, Hg, Ge, Ga. Великий вміст мають такі елементи, як залізо, кремній, фосфор та калій.

ВИСНОВКИ. 1. У зерні чумизи виявлено 17 амінокислот, 8 з яких є незамінними, та визначено кількісний вміст білка, який складає 14,78 мг/100 г.

2. У досліджуваній сировині було виявлено 27 мінеральних елементи. У незначній кількості містяться елементи Cd, As, Hg, Ge, Ga. Великий вміст мають такі елементи, як залізо, кремній, фосфор та калій. Цей факт можна враховувати при отриманні субстанцій, вивченні їх фармакологічної активності та прогнозуванні фармакологічної дії лікарського засобу,

3. Отримані результати будуть використані з метою стандартизації сировини.

Таблиця 1 – Якісний склад та кількісний вміст амінокислот і білка у зерні чумизи

№ за/п	Речовина	Вміст амінокислот		
		мг/100 г	у білку, %	в структурній одиниці (м/1000 зерен), %
1	Аспарагінова кислота	902±0,10	6,10±0,10	25,07
2	Валін	569±0,20	3,85±0,15	15,82
3	Ізолейцин	727±0,10	4,92±0,12	20,21
4	Лейцин	1769±0,20	11,97±0,18	49,18
5	Лізин	233±0,15	1,58±0,20	6,48
6	Метіонін	194±0,20	1,31±0,10	5,39
7	Треонін	426±0,20	2,88±0,15	11,84
8	Триптофан	115±0,10	0,78±0,20	3,20
9	Фенілаланін	520±0,12	3,52±0,12	14,45
10	Аланін	1128±0,18	7,63±0,18	31,36
11	Аргінін	793±0,10	5,36±0,12	22,05
12	Гістидин	450±0,10	3,04±0,18	12,51
13	Гліцин	415±0,20	2,81±0,20	11,54
14	Глутамінова кислота	2662±0,20	18,01±0,15	74,00
15	Пролін	840±0,10	5,68±0,15	23,35
16	Тирозин	386±0,20	2,61±0,12	10,73
17	Серин	563±0,20	3,81±0,10	15,65
18	Загальний вміст амінокислот	12692±0,20	85,86±0,20	352,83
19	Білок, %	14,48±0,10	–	410,88

Таблиця 2 – Результати елементного аналізу зерна чумизи

№ за/п	Елемент	Вміст, мг/100 г	№ за/п	Елемент	Вміст, мг/100 г
1	P	48±0,10	15	Mo	0,05±0,01
2	Mg	84±0,10	16	V	<0,02
3	Ca	19±0,10	17	Sr	0,02±0,01
4	Si	95,0±0,12	18	K	540±0,10
5	Al	0,36±0,18	19	Na	19±0,12
6	Mn	1,20±0,02	20	Co	<0,05
7	Pb	0,02±0,01	21	Sb	<0,03
8	Fe	33,60±0,10	22	Ga	<0,01
9	Sn	<0,01	23	Ge	<0,01
10	Cr	0,02±0,01	24	Bi	<0,02
11	Ni	0,19±0,01	25	Se	<0,01
12	Cu	0,96±0,05	26	Cd	<0,01
13	Hg	<0,01	27	As	<0,01
14	Zn	33,60±0,10			

ЛІТЕРАТУРА

1. Баранов В.Д., Устименко Г.В. Мир культурных растений. – М., 1994. – 174 с.
2. Вареница Е.Т. Чумиза. – М.: Гос. изд-во сельхоз. лит-ры, 1958. – 402 с.
3. Губанов И. Пищевые растения. – М., 1996. – С. 49-51.
4. Калинин Ф.Л., Лобов В.П., Жидков В.А. Справочник по биохимии. – К.: Наук. думка, 1971. – 1015 с.
5. Кисличенко В.С. Вивчення елементного складу смородини чорної, агрусу відхиленого та їх гібридів // Фармац. журн. – 1997. – № 4. – С. 77-80.

6. Кисличенко В.С. Минеральные вещества в организме человека и в растениях. Сообщение № 3 // Вестник проблем биологии и медицины. – 1997. – № 18. – С. 136-153.

7. Кисличенко В.С. Якісне та кількісне визначення амінокислот у деяких представниках родин Агросові, Бруслинні та Ранникові // Фармаком. – 1999. – № 2. – С. 22-24.

8. Новые методы анализа аминокислот, пептидов и белков / Под ред. Ю.А. Овчинникова. – М.: Мир, 1974. – 462 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ БЕЛКОВО-АМИНОКИСЛОТНОГО И МИНЕРАЛЬНОГО КОМПЛЕКСОВ ЗЕРНА ЧУМИЗЫ

З.И. Омельченко, В.С. Кисличенко
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Проведено исследование белково-аминокислотного и минерального комплексов зерна чумизы. Установлено наличие 17 аминокислот, 8 из которых являются незаменимыми, и определено количественное содержание белка. В исследованном сырье было обнаружено 27 минеральных элементов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: зерно чумизы, аминокислоты, белок, качественный состав, количественное определение, микро- и макроэлементы.

RESEARCH OF PROTEIN-AMINOACIDIC AND MINERAL COMPLEXES OF SETARIA ITALICA GRAIN

Z.I. Omelchenko, V.S. Kyslychenko
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

Summary

Protein-aminoacidic and mineral complexes of *Setaria italica* grain were studied. It was established the availability of 17 amino acids, 8 of which are irreplaceable and quantitative contents of protein. 27 mineral elements were determined in in-vestigated raw material.

KEY WORDS: *Setaria italica* grain, amino acids, protein, qualitative structure, quantitative determination, micro- and macroelements.

Отримано 06.08.2004 р.

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

ДОСЛІДЖЕННЯ ХІМІЧНОГО СКЛАДУ НАДЗЕМНОЇ ЧАСТИНИ ПИРІЮ ПОВЗУЧОГО *AGROPYRON REPENS L.*

С.М. Марчишин, І.С. Дахим

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Для вивчення хімічного складу надземної частини пирію повзучого, зібраного ранньої весни, із застосуванням 70° етилового спирту, розчину Фолча, східчастої екстракції сірчаним ефіром, хлороформом, ацетоном, етилацетатом, 70° етанолом і н-бутанолом одержано ряд фракцій сполук. З використанням методу високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) проведено дослідження хроматографічного профілю спиртово-водного екстракту, виявлено близько 23 піків речовин. Методом двомірної хроматографії на папері охарактеризованого екстракту визначено природу домінуючих сполук. Доведено наявність на хроматограмі 11 флавоноїдів флавонового походження; ідентифіковано 5 оксикоричних кислот (кавову, ферулову, п-кумарову, хлорогенову та неоохлорогенову), 7 ацильованих похідних флавоноїдів та оксикумаринів. У кислотному гідролізаті спиртово-водного екстракту вперше ідентифіковано апігенін, акацетин та кверцетин, підтверджено наявність трицину. Наведено характеристики якісного та кількісного жирнокислотного складу три-, ди-, моногліцеридів та фосфоліпідів з урахуванням жирних кислот, які перебувають у вільному стані.

Літературні джерела свідчать про те, що надземна частина пирію повзучого має виражені проти-запальні, гемостатичні, молокогінні властивості, впливає на функції щитоподібної залози та зір людини.

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

ВСТУП. Пирій повзучий (*AGROPYRON REPENS L.*) – цінна лікарська і дуже поширена кормова рослина. На корм використовують надземну частину рослини, яку на пасовищах поїдають усі види худоби. Свіжа трава і сіно з неї мають багато поживних речовин. Крім того, молоді листки і кінчики стебел пирію їдять олені, гуси, кролі, коти і собаки [5, 6]. У медичній практиці використовують сік свіжих листків і стебел при каменях у жовчному міхурі [2, 4, 7, 8]. Відвар з надземної частини пирію має виражені протизапальні й гемостатичні властивості, ним лікують захворювання щитоподібної залози та очей [1].

Дана стаття є продовженням серії досліджень щодо вивчення хімічного складу пирію повзучого. У цьому повідомленні представлено результати дослідження надземної частини пирію, зібраного ранньої весни.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Екстракт пирію повзучого одержували, використовуючи як екстрагенти 70° етиловий спирт, сірчаний ефір, хлороформ, ацетон, етилацетат, н-бутанол та © С.М. Марчишин – к.фарм.н., І.С. Дахим, 2004.

розчин Фолча. Рослинну сировину подрібнювали, кількісно екстрагували, випаровували під розріджуванням у струмі інертного газу до певного об'єму. Хроматографічний профіль спиртового екстракту отримували методом ВЕРХ на приладі "Міліхром-4" УФ. Умови хроматографії підібрано експериментально [3, 9]. Колонка – стальна, розміром 120x2,0 мм. Сорбент – нуклеосил С18 (7 мкм). Рухома фаза 1 (РФ1) – 0,005 % розчин трифтороцтової кислоти. Рухома фаза 2 (РФ2) – ацетонітрил. Склад рухомої фази сходишно програмували (табл. 1).

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

Якісний склад екстрактів оцінювали із застосуванням методу двомірної хроматографії на папері, використовуючи системи розчинників: н-бутанол-оцтова кислота-вода (4:1:2) – І напрямом; 15 % оцтова кислота – ІІ напрямом. Також використовували метод тонкошарової хроматографії (на пластинках із шаром силікагелю G) і систему розчинників: етилацетат-толуол (5:95) та кислота мурашина (б/в)-кис-

Таблиця 1 – Склад рухомої фази

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

лота оцтова-вода-етилацетат (7,5:7,5:18:67). Аналіз хроматограм проводили в УФ-частині спектра при довжині хвилі 366 нм, використовуючи реагенти: 1 % розчин анісового альдегіду з наступним витримуванням хроматограм у сушильній шафі при температурі 105 °С протягом 3 хв; 6 % розчин КОН; 0,5 % розчин дифенілборної кислоти моноетилового ефіру в етиловому спирті. Потім стабілізували 5 % розчином ПЕГ-400 у метанолі.

Метиллові ефіри жирних кислот одержували за методикою А.А. Лур'є з використанням суміші діетилового ефіру, метанолу та хлористого ацетилю в співвідношенні 5:50:1. Циклогексановий витяг екстракту кількісно хроматографували на газовому хроматографі з полум'яно-іонізаційним детектором. Колонка – капілярна кварцова, розміром 25 м x 0,25 мм, HP-225, товщина шару – 0,25 мкм.

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

Вміст жирних кислот у зразку, який досліджували, розраховували методом "внутрішньої нормалізації", поправкові коефіцієнти брали за одиницю.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Хроматографічний профіль спиртового-водного екстракту надземної частини пирію повзучого відображено на рисунку 1. Результати хроматографування свідчать про наявність в екстракті близько 23 піків окремих домінуючих компонентів.

Схему двомірної хроматограми на папері спиртового-водного екстракту надземної частини пирію повзучого наведено на рисунку 2. На відміну від результатів хроматографічного профілю, двомірна хроматографія на папері дає можливість ідентифікувати виділені сполуки: сполуки, представлені плямами 1, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, ідентифіковано як флавоноїди – глікозиди агліконів флавонового походження; спо-

луки, представлені плямами 22, 23, 25, 26, 27, – як кавову, ферулову, п-кумарову, хлорогенову та неохлорогенову кислоти відповідно; сполуки, представлені плямами 28, 29, 30, 31, віднесено до ацильованих похідних флавоноїдів та оксикумаринів.

Методом порівняння з достовірними зразками чистих сполук у кислотному гідролізаті спиртового-водного екстракту вперше ідентифіковано апігенін, акацетин, кверцетин, підтверджено наявність фруктану – трицину.

Схеми тонкошарових хроматограм, одержаних у наведених вище системах розчинників та проявлених названими вище реагентами витягів, які отримували методом східчастої екстракції сірчанним ефіром, хлороформом, ацетоном, етилацетатом, 70° етанолом та н-бутанолом, свідчать про наявність хлорофілів і каротиноїдів в ефірній, хлороформній та, частково, ацетоновій витяжках, оксикумаринів – у хлороформній, спиртовій та н-бутаноловій, флавоноїдів – в етилацетатній, етанольній та н-бутанольній.

Результати ВЕРХ-хроматографії та двомірної хроматографії на папері підтверджують, що

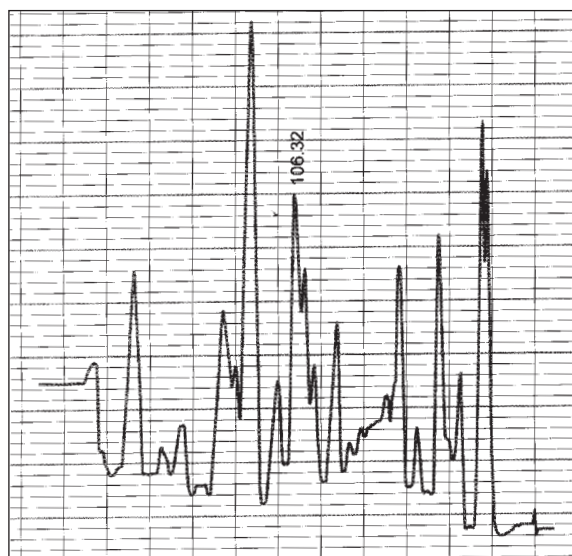


Рис. 1. Хроматографічний профіль спиртового екстракту надземної частини пирію повзучого (ВЕРХ).

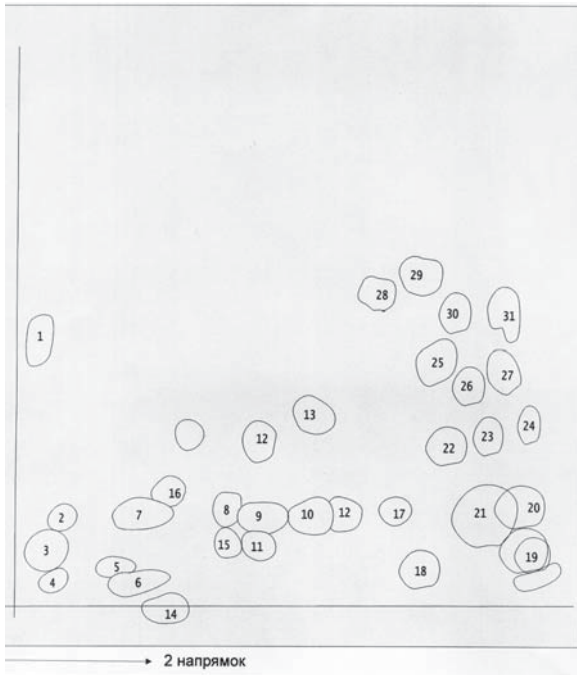


Рис. 2. Схема двомірної хроматограми спиртового екстракту надземної частини пирію повзучого.

екстракт пирію повзучого містить велику кількість біологічно активних речовин, структуру яких методом тонкошарової препаративної хроматографії встановити не можна. Для іден-

тифікації численних сполук надземної частини пирію повзучого необхідно застосовувати лише метод ВЕРХ відокремлення.

На рисунку 3 відображено хроматограму метилових ефірів жирних кислот ліпофільного екстракту надземної частини пирію повзучого. Одержані дані свідчать про те, що жирнокислотний склад надземної частини пирію повзучого більш різноманітний, ніж коренів та кореневищ. Ліпофільний екстракт включає ізомерні пари жирних кислот, у ньому кількісно переважають поліненасичені жирні кислоти (табл. 2). Найбільший вміст (32 %) припадає на ліноленову кислоту. Крім неї, є ліолева кислота (10 %). З насичених жирних кислот переважає пальмітинова (11 %).

ВИСНОВКИ. У надземній частині пирію повзучого методами ВЕРХ та двомірної хроматографії на папері виявлено близько 23 сполук фенольної природи: 11 флавоноїдів флавонового походження, 7 ацильованих похідних флавоноїдів та оксикумаринів і 5 оксикоричних кислот: кавову, ферулову, п-кумарову, хлорогенову та неохлорогенову. В кислотному гідролізаті спиртового екстракту вперше ідентифіковано апігенін, акацетин та кверцетин, підтверджено наявність трицину.

Таблиця 2 – Інформація про ідентифікацію жирних кислот та їх кількісне співвідношення у ліпофільній фракції надземної частини пирію повзучого

№ піка	Час утримання	Площа піка	Висота піка	Ідентифікаційний номер піка	Концентрація жирних кислот	Скорочене хімічне позначення жирних кислот	Назва жирних кислот
2	4,949	2612	900	1	0,977	неідентифіковано	
3	5,081	4026	1601	2	1,4888	неідентифіковано	
6	5,388	2777	1459	4	1,0268	неідентифіковано	
7	5,743	4672	2313	5	1,7276	C12:0	лауринова
8	6,46	3343	1609	6	1,2361	C12:1?	
11	6,824	2120	965	7	0,7839	C14:0	міристинова
13	7,51	30315	13030	9	11,2104	C16:0	пальмітинова
15	7,858	3205	995	10	1,1853	C16: 1п9	
17	10,023	4562	1772	11	1,687	C18:0	стеаринова
18	10,103	3213	1221	11	1,881	C18:0	стеаринова
19	10,155	4960	1761	12	1,8342	C18: 1п9	олеїнова
20	11,267	26437	9375	13	9,7763	C18:2п9.12	ліолева
21	11,55	2754	902	13	1,0182	C18:2п9.12,6	
23	12,311	92288	32807	14	31,1276	C18:3п9-15	ліноленова
24	13,164	13448	3068	16	4,9731	C20:0	арахінова
25	14,734	2468	754	18	0,9125	C21:0?	
26	16,419	14524	3961	19	5,3709	C22:0	бегенова
27	16,665	15835	4870	20	5,9557	C22: 1	ерукова
30	18,128	2101	541	21	0,777	неідентифіковано	
32	18,575	5209	1444	21	1,9261	неідентифіковано	
36	19,772	2181	618	22	0,8066	C24:0	лігноцеринова
37	19,91	11781	2956	22	4,3566	C24:0	лігноцеринова
38	20,253	4203	1963	23	1,5541	C24: 1	
39	20,414	11357	3028	23	4,1998	C24: 1	
42	24,113	3680	631				
	Всього	274100	93644			100	

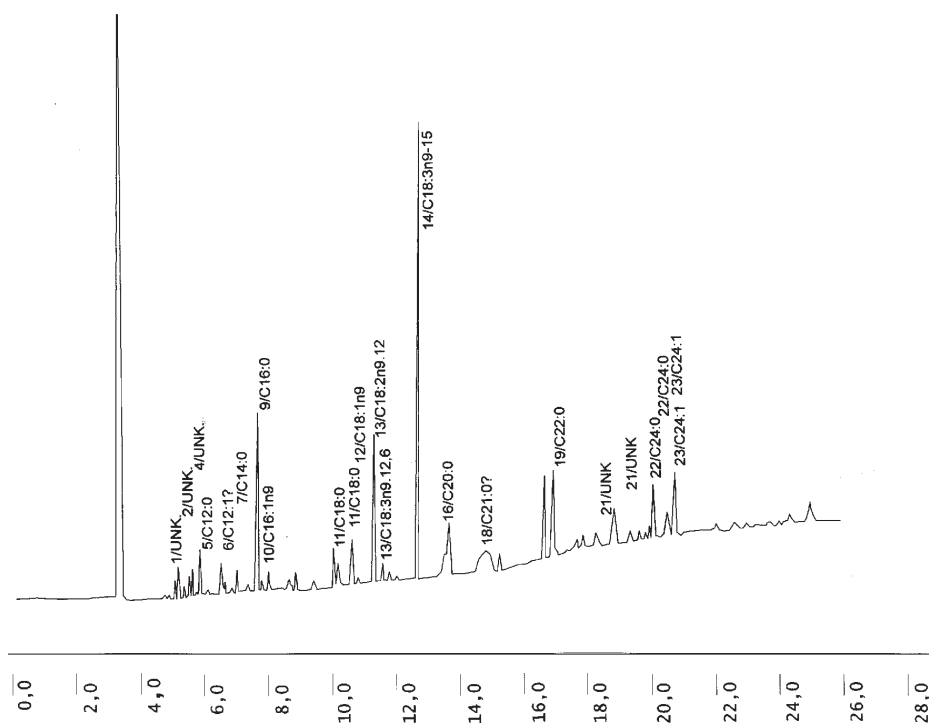


Рис. 3. Хроматограма метилових ефірів жирних кислот ліпофільного екстракту надземної частини пирію повзучого.

1. Методом східчастої екстракції з використанням сірчаного ефіру, хлороформу, ацетону, етилацетату, 70° етанолу та н-бутанолу проведено фракціонування речовин надземної частини пирію повзучого. Встановлено наявність хлорофілів, каротиноїдів, оксикумаринів та флавоноїдів, розподілених згідно з полярністю сполук та розчинників.

2. Встановлено, що жирнокислотний склад надземної частини пирію повзучого більш різноманітний, ніж коренів та кореневищ, при аналогічному переважанні поліненасичених

жирних кислот над насиченими.

3. Ліпофільна фракція надземної частини пирію повзучого містить ізомерні пари жирних кислот.

4. Результати досліджень і досвід народної медицини щодо використання надземної частини пирію повзучого як протизапального і гемостатичного засобу свідчать про доцільність вивчення та використання надземної частини пирію повзучого як джерела біологічно активних сполук і створення на їх основі лікарських засобів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Губанов И.А., Киселева К.В., Новиков В.С., Тихомиров В.Н. Луговые травянистые растения. Биология и охрана: Справочник.- М.: Агропромиздат, 1990. – С. 37.
2. Губергриц А.Я., Соломченко Н.И. Лекарственные растения Донбасса. – Донецьк: Донбас, 1992. – С. 133-134.
3. Кейтс М. Техника липидологии, выделение, анализ и идентификация липидов: Пер. с англ. – М.: Мир, 1975. – 322 с.
4. Молчанов Г.И., Молчанова Л.П., Гулько Н.М. и др. Съедобные целебные растения: Справочник. – Ростов-на-Дону.: Изд-во Ростовского ун-та, 1994. – С. 236-237.

5. Морозюк С.С., Протопопова В.В. Альбом з ботаніки. – К.: Радянська школа, 1979. – С. 139.
6. Прокудин Ю.М., Вовк А.Г., Петрова О.А. Злаки Украины. – К.: Наукова думка, 1977. – 520 с.
7. Растительные ресурсы России и сопредельных государств: Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства Butomaceae-Turphaceae. – С.Пб.: Наука, 1994. – С. 125-126.
8. Рябчук В.П. Дари лісу. – Львів: Світ, 1991. – С. 72.
9. Хроматография. Практическое приложение метода / Под ред. Э. Хефтмана.. – М.: Мир, 1986. – Часть 1. – 336 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ ПЫРЕЯ ПОЛЗУЧЕГО *AGROPYRON REPENS L.*

С.М. Марчишин, И.С. Дахим

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Для изучения химического состава надземной части пырея ползучего, собранного ранней весной, с применением 70° этилового спирта, раствора Фолча, ступенчатой экстракции серным эфиром, хлороформом, ацетоном, этилацетатом, 70° этанолом и *n*-бутанолом получен ряд фракций соединений. С использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) исследован хроматографический профиль спиртово-водного экстракта, выявлено около 23 пиков веществ. Методом двумерной хроматографии на бумаге охарактеризованного экстракта определена природа доминирующих соединений. Доказано наличие на хроматограмме 11 флавоноидов флавонового происхождения; идентифицировано 5 оксикоричных кислот (кофейную, феруловую, *p*-кумаровую, хлорогеновую и неохлорогеновую) 7 ацилированных производных флавоноидов и оксикумаринов. В кислотном гидролизате спиртово-водного экстракта впервые идентифицированы апигенин, акацетин и кверцетин, подтверждено наличие трицина. Приведены характеристики качественного и количественного жирнокислотного состава три-, ди-, моноглицеридов и фосфолипидов с учетом жирных кислот, находящихся в свободном состоянии.

Литературные источники свидетельствуют о том, что надземная часть пырея ползучего имеет выраженные противовоспалительные, гемостатические и молокогонные свойства, влияет на функции щитовидной железы и зрение человека.

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

RESEARCH OF CHEMICAL COMPOSITION OF THE COUCH-GRASS HERB *AGROPYRON REPENS L.*

S.M. Marchyshyn, I.S. Dakhym

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.Y. HORBACHEVSKY

Summary

Set of substance fractions is received for chemical composition research from the couch-grass herb gathered in the early spring. Fractions are received using 70° ethyl alcohol, Folch solution, stepped extraction by sulphuric ether, chloroform, acetone, ethyl acetate, 70° ethanol and *n*-butanol. The chromatographic profile of the alcohol-water extract is investigated using Highly Effective Liquid Chromatography method. Presence of about than 23 peaks of substances is determined. Two-dimensional chromatography of the characterized extract allowed to determine the nature of dominating compounds. It is proved that 11 flavonoids of the flavone group and 7 acylated flavonoid derivates and oxycumarines are present. 5 oxycinnamic acids are identified: coffee, ferule, *p*-cumarial, chlorogene and neochlorogene. For the first time apigenin, acacetine and quercetin are identified and tricinn presence is confirmed in the acid hydrolyzate of the alcohol-water extract. Qualitative and quantitative fatty-acid composition of triglycerides, diglycerides, monoglycerides and phospholipids is characterized, taking into account fatty acids in the free state.

The literary data testify to galactopoeitic, antiphlogistic, hemostatic properties of couch-grass herb and to its influence on the thyroid gland functions and on human vision quality.

KEY WORDS: couch-grass, extraction, chromatographic research, identification.

Отримано 15.06.2004 р.

Адреса для листування: І.С. Дахим, вул. Тарнавського, 1, кв. 146, Тернопіль, 46016, Україна.

ПОКАЗНИКИ ЛЕЙКОЦИТАРНОЇ ФОРМУЛИ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ЦИНКОВОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ МОНОСПОРИНОМ-ПК

М.В. Кривцова

УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Досліджено вплив пробіотики "Моноспорин-ПК" на показники лейкоцитарної формули крові морських свинок за умов експериментальної цинкової інтоксикації. Показано, що отруєння, відтворене шляхом 10-денного перорального введення сульфату цинку в концентрації 2 мг/кг, супроводжувалось лімфоцитопенією, моноцитозом, збільшенням кількості нейтрофілів та еозинофілів. Нормалізацію відсоткового вмісту паличкоядерних нейтрофілів спостерігали через 7 днів після припинення введення токсиканту. В групі нелікованих тварин через 21 добу після останнього введення сульфату цинку відмічали знижену кількість сегментоядерних нейтрофілів, підвищене (у 9 разів) число еозинофілів; відсотковий вміст моноцитів і лімфоцитів становив нижню межу нормальних значень. Застосування пробіотики "Моноспорину-ПК" за умов інтоксикації забезпечувало ефективну корекцію досліджуваних показників лейкограми.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: цинкова інтоксикація, пробіотик "Моноспорин-ПК", лейкоцитарна формула, нейтрофіли, еозинофіли, моноцити, лімфоцити.

ВСТУП. Протягом останніх десятиріч відмічається посилення впливу антропогенних чинників на організм людини і тварин. На сьогодні відомо, що в етіології ряду метаболічних хвороб першочергове значення належить порушенням надходження чи засвоєння певних мікроелементів. Саме тому дослідники велику увагу приділяють вивченню впливу важких металів (ВМ) на живі організми та пошуку нових засобів, що характеризувалися б протективними та антитоксичними властивостями відносно "екзоекотоксинів" [4, 8, 12]. Актуальність даної проблеми для населення Закарпаття зумовлена перш за все підвищеною концентрацією ВМ у ґрунтах прилеглих до ріки Тиси районів області після аварій на гірничодобувних підприємствах Румунії. Слід відмітити, що й у фонових (відносно чистих) точках реєстрували перевищення рівня гранично допустимої концентрації цинку у 2-4 рази [2].

Експериментальне отруєння лабораторних тварин сполуками цинку призводить до суттєвих порушень функціональної активності щитоподібної залози [5, 13], ліпідного, білкового обміну, імунного статусу організму [14]. В

© М.В. Кривцова, 2004.

роботах останніх років показано позитивні результати використання імуномодуючих препаратів для корекції окремих ланок імунної та антиоксидної систем організму при інтоксикаціях сполуками ВМ [7]. У ході експериментів на кролях нами виявлено корегувальний ефект пробіотики "Моноспорин-ПК" на ряд показників імунної відповіді, біохімічного та тиреоїдного статусу організму, отруєного сульфатом цинку [5, 13]. Дослідження динаміки змін показників лейкоцитарної формули при цинковій інтоксикації викликає інтерес стосовно розширення уявлень про механізм токсичної дії ВМ на організм теплокровних.

Метою нашої роботи було: 1) вивчення впливу сульфату цинку на показники лейкограми периферичної крові лабораторних тварин; 2) з'ясування корегуючої ефективності бактеріального біопрепарату "Моноспорин-ПК" [2] за умов експериментального цинкового отруєння.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на 30 клінічно здорових морських свинках-самцях масою 300-400 г. Тварин поділили на 3 групи. 1-шу контрольну групу склали інтактні

морські свинки (К). У морських тварин 2-ї і 3-ї груп викликали цинкову інтоксикацію шляхом 10-денного перорального введення сульфату цинку з розрахунку 2 мг/кг маси. 2-га група становила контроль цинкової інтоксикації (ZnK). Тваринам 3-ї групи (Zn+пробіотик "Моноспорин-ПК") з метою корекції порушень, спричинених отруєнням, протягом тижні вводили живу суспензію активної основи пробіотика "Моноспорин-ПК" (*Bacillus subtilis* 090) по 1 мл щоденно (титр 1 млрд мікр. кл./мл). Кров відбирали з вуха морської свинки. Визначення показників лейкограми здійснювали в динаміці: у тварин групи ZnK – через 1, 7, та 21 добу після припинення введення токсиканту; в групі Zn+пробіотик "Моноспорин-ПК" – через 1, 14 діб після останнього введення пробіотика. Мазки крові фіксували та фарбували за Паппенгеймом [9]. Результати досліджень піддавали статистичному аналізу з використанням t-критерію Стьюдента [6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. За умов цинкової інтоксикації виявлено зміни у лейкоцитарній формулі периферичної крові морських свинок (табл. 1). Так, 10-денне введення солі цинку призвело до різкого зростання числа моноцитів (у 4,62 раза), лімфоцитопенії (зменшення кількості лімфоцитів у 2,20 раза) та нейтрофілозу (підвищення рівня як паличко-, так і сегментоядерних нейтрофілів). Реєстровані нами зміни у лейкограмі крові отруєних тварин, зокрема лімфоцитопенія, нейтрофілоз, токсична зернистість нейтрофілів, є ознаками інтоксикації організму [1]. Збільшення кількості еозинофілів за умов отруєння може свідчити про розвиток алергійних реакцій. Існує також думка, що одним із механізмів захисної функції еозинофілів є їх здатність до адсорбції

і знешкодження токсичних речовин, тому еозинофілію іноді розглядають як прояв захисної функції організму [1]. Явище еозинофілії реєструють і при зростанні концентрації цинку в крові [10].

За умов отруєння виявлено також зміни у складі мікрофлори кишечника морських свинок.

Дослідження показали, що вже через 7 діб після припинення введення сульфату цинку в крові отруєних тварин спостерігали нормалізацію рівня паличкоядерних нейтрофілів, підвищення числа лімфоцитів у 1,81 раза, зниження вмісту моноцитів у бік нормалізації. При цьому відмічали зменшення підвищеної кількості сегментоядерних форм нейтрофілів нижче встановленої в інтактних морських свинок норми та зростання вмісту еозинофілів до (9,00±0,26) % проти (1,11±0,60) % в інтактному контролі.

У групі нелікованих тварин навіть через 21 добу після припинення введення сульфату цинку відмічали знижену кількість сегментоядерних нейтрофілів, підвищене (у 9 разів) число еозинофілів; відсотковий вміст моноцитів і лімфоцитів становив нижню межу нормальних значень – (1,20±0,13) та (56,30±1,10) % відповідно. Отже, отримані дані вказують на стійкі зміни кількісного складу показників лейкограми за умов цинкової інтоксикації.

Тижневе введення препарату на фоні інтоксикації (група Zn+пробіотик "Моноспорин-ПК") призвело до нормалізації кількості моноцитів та достовірного підвищення вмісту лімфоцитів. Під впливом пробіотика спостерігали також зниження відсотка еозинофілів, сегменто- та паличкоядерних нейтрофілів. Слід відмітити, що через 14 діб після припинення терапевтичного застосування реєстрували нормалізацію всіх досліджуваних показників лейкограми. Регулювальний ефект пробіотика

Таблиця 1 – Вплив пробіотика "Моноспорин-ПК" на показники лейкоцитарної формули крові морських свинок за умов експериментальної цинкової інтоксикації (M±m)

Показник, %	Інтактні тварини (К), n=10	Варіант дослідю				
		Контроль цинкової інтоксикації (ZnK), n=10			7-денне введення біопрепарату "Моноспорин-ПК" за умов цинкової інтоксикації (Zn+пробіотик "Моноспорин-ПК"), n=10	
		доба після останнього введення сульфату цинку			доба після останнього введення пробіотика	
		1	7	21	1	14
Моноцити	3,70±0,21	17,10±0,35*	5,20±0,25*	1,20±0,13*	2,90±0,31	3,60±0,34
Лімфоцити	63,80±1,10	28,90±1,00*	52,50±0,98*	56,30±1,10*	50,80±0,73*	61,60±0,70
Еозинофіли	1,11±0,60	3,35±0,19*	9,00±0,26*	9,10±0,31*	4,80±0,25*	1,80±0,36
Нейтрофіли паличкоядерні	0,91±0,04	3,03±0,18*	0,87±0,04	0,85±0,03	1,80±0,25*	1,19±0,14
Нейтрофіли сегментоядерні	32,10±0,67	46,30±0,52*	27,00±0,30*	28,80±0,42*	40,40±0,54*	30,30±0,60

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

"Моноспорину-ПК" на показники лейкограми крові морських свинок, на нашу думку, можна пояснити здатністю бактерій роду *Bacillus* до зв'язування та інкорпорації ВМ, що у поєднанні з їх швидкою елімінацією із шлунково-кишкового тракту зумовлює перспективність використання біопрепаратів із бацил як засобу, який певною мірою сприяє виведенню сполук ВМ з організму теплокровних. Показано також суттєву стимуляцію захисних реакцій організму під впливом біопрепаратів із бацил, яка проявляється і в здатності бактерій роду *Bacillus* до активації регіональних лімфовузлів та лейкоцитів крові. Так, на 4 добу після введення біопрепаратів із *Bacillus subtilis* 2335 виявлено збільшення числа псевдоподій, первинних і вторинних гранул у нейтрофілах, трансформацію моноцитів у макрофаги, а також зміну ультраструктури моноцитів (наявність великих псевдоподій, круглих і овальних мітохондрій з виразними кристами) [11]. Раніше нами було показано, що застосування пробіотику на фоні інтоксикації організму ВМ забезпечує нормалізацію рівня білків альбумінової фракції, γ -глобуліну та показника альбумін-глобулінового

коефіцієнта, а також тенденцію до нормалізації вмісту α_2 -глобулінів, сечовини та холестерину [14]. Отже, отримані результати свідчать про принципову можливість використання біопрепарату "Моноспорин-ПК" з метою корекції порушень, спричинених інтоксикацією організму сульфатом цинку.

ВИСНОВКИ. 1. Експериментальна цинкова інтоксикація призводила до виражених змін кількісних показників лейкоцитів крові морських свинок: моноцитозу, лімфоцитопенії, нейтрофілїозу та еозинофілії. Через 7 діб після останнього введення сульфату цинку спостерігали нормалізацію кількості паличкоядерних нейтрофілів та тенденцію до нормалізації вмісту лімфоцитів.

2. Введення пробіотику "Моноспорин-ПК" ефективно корегувало порушення, викликані інтоксикацією, сприяло більш швидкій нормалізації показників лейкоцитарної формули, причому через 14 діб після його останнього введення у крові піддослідних тварин не спостерігали відхилень від нормальних значень лейкограми.

ЛІТЕРАТУРА

1. Базарнова М.А., Воробьев А.И., Баркачин З.С. и др. Руководство по клинической лабораторной диагностике. – К.: Высшая школа, 1991. – 615 с.

2. Бойко Н.В. Протективна ефективність бактеріального біопрепарату Моноспорину-ПК в умовах сучасних агроєкоценозів // Бюлетень Інституту сільськогосподарської мікробіології. – 2000. – № 8. – С. 32-34.

3. Бойко Н.В., Чонка І.І., Ніколайчук В.І. Динаміка валового вмісту важких металів у ґрунтах Закарпатської області // Гігієна населених місць. – 2002. – Вип. 40. С. 120-125.

4. Гонський Я.І., Головка Л.Л. Стан захисних систем організму за умов поєднаної дії солей кадмію та свинцю // Мед. хімія. – 2004. – 6, № 1. – С. 10-12.

5. Кривцова М.В., Бойко Н.В., Фабрі З.Й., Ніколайчук В.І. Порівняльне вивчення тиреоїдного статусу макроорганізму в умовах гіпотиреозу та експериментальної цинкової інтоксикації // VI Міжнародна науково-практична конференція студентів, аспірантів та молодих вчених "Екологія. Людина. Суспільство": Зб. тез доповідей. – К., 2003. – С. 44.

6. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1973. – 342 с.

7. Мардар Г.І., Савчук Г.Г., Каваре В.І. та ін. Вплив солей важких металів на гістохімічні показники крові та гістофізіологічні показники гіпофізу білих щурів на тлі препарату Еросол // Науковий вісник УжНУ. Серія: Біологія. – 2000. – № 8. – С. 117-120.

8. Матолінець О.М. Вікові особливості антиоксидантної та імунної систем у тварин з кадмієвою інтоксикацією і корекція їх за допомогою антиоксидантів і ентеросорбентів: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Тернопіль, 2000. – 20 с.

9. Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П., Андреева З.М. и др. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник М.: Медицина, 1987. – 368 с.

10. Руководство по клинической лабораторной диагностике / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1982. – 576 с.

11. Смирнов В.В., Резник С.Р., Вьюницкая В.А. и др. Современные представления о механизмах лечебно-профилактического действия пробиотиков из бактерий рода *Bacillus* // Микробиол. журн. – 1993. – 55, № 4. – С. 92-112.

12. Ястремська С.О. Вікові особливості порушень вільнорадикального і енергозабезпечуваль-

ного окислення при кадмієвому токсикозі та корекція їх антиоксидантами та сорбентами: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Чернівці, 2002. – 20 с.

13. Dean C.E., Hargis B.M., Hargis P.S. Effects of zinc toxicity on thyroid function and histology in broiler chicks // *Toxicol Lett.* – 1991. – **57**, № 3. – P. 309-318.

14. Krivtsova M.V., Boiko N.V. Effectiveness of new eubiotic from bacilli to correction of the biochemical state tested in vivo on experimental intoxication rabbit model by low doses of zinc salt // International Weigl conference "Microorganisms in pathogenesis and their drug resistance": Programme and abstracts. – Lviv, 2003. – P. 72.

ПОКАЗАТЕЛИ ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ ФОРМУЛЫ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЦИНКОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ИХ КОРРЕКЦИЯ МОНОСПОРИНОМ-ПК

М.В. Кривцова

УЖГОРОДСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Исследовано влияние пробиотика "Моноспорин-ПК" на показатели лейкоцитарной формулы морских свинок в условиях экспериментальной цинковой интоксикации. Показано, что отравление, воспроизведенное путем 10-дневного перорального введения сульфата цинка в концентрации 2 мг/кг, сопровождалось лимфоцитопенией, моноцитозом, увеличением количества нейтрофилов и эозинофилов. Нормализацию процентного содержания палочкоядерных нейтрофилов наблюдали через 7 суток после прекращения введения токсиканта. В группе нелеченых животных через 21 сутки после последнего введения сульфата цинка отмечали пониженное количество сегментоядерных нейтрофилов, повышенное (в 9 раз) число эозинофилов; процентное содержание моноцитов и лимфоцитов составляло нижнюю границу нормальных значений. Использование пробиотика "Моноспорин-ПК" в условиях интоксикации обеспечивало эффективную коррекцию исследуемых показателей лейкограммы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: цинковая интоксикация, пробиотик "Моноспорин-ПК", пробиотики, лейкоцитарная формула, нейтрофилы, эозинофилы, моноциты, лимфоциты.

WHITE BLOOD COUNT INDICES OF LABORATORY ANIMALS DURING EXPERIMENTAL ZINC INTOXICATION AND THEIR CORRECTION WITH MONOSPORYN-PK

M.V. Krivtsova

UZHGOROD NATIONAL UNIVERSITY

Summary

Effect of probiotic "Monosporyn-PK" upon blood count indices has been studied under the conditions of experimental zinc intoxication. The intoxication reproduced by 10-day peroral introduction of zinc sulfate in concentration of 2 mg/kg was shown to be accompanied with lymphocytopenia, monocytosis, increase of the number of neutrophils and eosinophiles. The percentage of stab neutrophils was observed to have normalized 7 days after the discontinuance of toxicant introduction. In the group of the nontreated animals a decreased quantity of segmented neutrophils, increased (9 times) number of eosinophiles was noticed on the 21st day after the discontinuance of zinc sulfate introduction; while the percentage of monocytes and lymphocytes equaled to the lower limit of their normal concentrations. Application of probiotic "Monosporyn-PK" during intoxication provided for efficient correction of the white blood count indices under review.

KEY WORDS: zinc intoxication, probiotic "Monosporyn-PK", white blood count, neutrophiles, eosinophiles, monocytes, lymphocytes.

Отримано 16.07.2004 р.

Адреса для листування: М.В. Кривцова, вул. Лавріщева, 2а, кв. 21, Ужгород, Закарпатська обл., 88000, Україна.

ЦИТОТОКСИЧНА ДІЯ 5-ГІДРОКСИМЕТИЛ-2-ІМІНО-8-МЕТИЛ-2Н-ПІРАНО[2,3-С]ПІРИДИН-3-(N-АРИЛ)КАРБОКСАМІДІВ

І.О. Журавель, Л.М. Малоштан, В.М. Маркова, С.М. Коваленко, В.В. Іванов¹
 НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ, ХАРКІВ
 НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В.Н. КАРАЗІНА, ХАРКІВ¹

Здійснено синтез 5-гідроксиметил-2-іміно-8-метил-2Н-пірано[2,3-с]піридин-3-(N-арил)карбоксамідів. Структуру одержаних сполук доведено спектральними методами. Досліджено вплив синтезованих речовин на живу клітину. Проведено QSAR-аналіз цитотоксичності речовин класу 2Н-пірано[2,3-с]піридинів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: піридоксаль, 2Н-пірано[2,3-с]піридини, цитотоксична дія, біологічно активні речовини, QSAR-аналіз.

ВСТУП. Упродовж останніх років піридоксаль (3-гідрокси-5-гідроксиметил-2-метил-4-формілпіридин) все частіше привертає увагу хіміків як багатофункціональна сполука для органічного синтезу, а також у зв'язку з можливістю побудови на його основі модельних сполук з метою вивчення ряду ферментних систем [7, 8]. Його використання в реакції Кньовена-геля з метиленактивними нітрилами дозволяє перейти до якісно нових гетероциклічних сполук – 2-іміно-2Н-пірано[2,3-с]піридинів, що вперше описані нами в роботі [1].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. 5-Гідроксиметил-2-іміно-8-метил-2Н-пірано[2,3-с]піридин-3-(N-арил)карбоксаміди синтезували шляхом взаємодії еквімолярних кількостей вихідних реагентів у присутності піперидину. Будову синтезованих сполук доведено за допомогою спектральних методів досліджень. Цитотоксичну їх дію досліджено *in vitro* експрес-методом. QSAR-аналіз цитотоксичності речовин класу 2Н-пірано[2,3-с]піридинів проведено з використанням методу дискримінантних функцій.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Синтез похідних 2Н-пірано[2,3-с]піридину. В лабораторії органічного синтезу НФаУ було досліджено взаємодію піридоксалу гідрохлориду із замі-

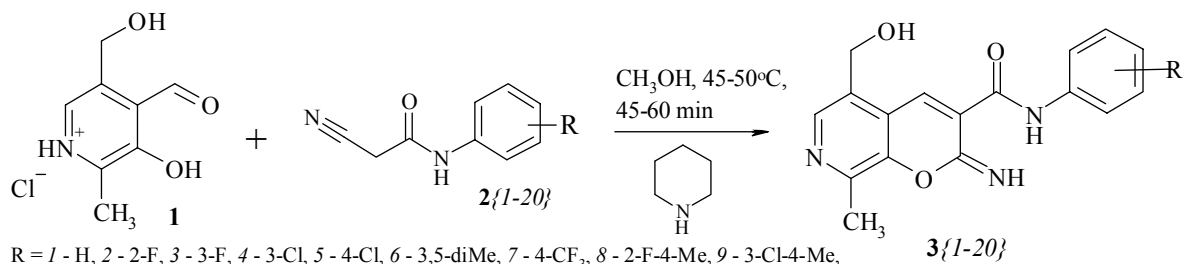
© І.О. Журавель – к.хім.н., Л.М. Малоштан – д.біол.н., проф., В.М. Маркова – к.біол.н., С.М. Коваленко – д.хім.н., проф., В.В. Іванов – к.хім.н., 2004.

щеними амідами ціанооцтової кислоти та розроблено методику синтезу 5-гідроксиметил-2-іміно-8-метил-2Н-пірано[2,3-с]піридин-3-(N-арил)карбоксамідів (рис. 1):

Встановлено, що проведення реакції під час нагрівання в абсолютному метанолі при використанні подвійного надлишку піперидину дозволяє практично повністю виключити можливість перебігу реакції гідролізу імінолактону та здійснювати синтез кінцевих продуктів з практично кількісними виходами. Будову синтезованих сполук доведено за допомогою елементного та, методів ІЧ- та ПМР-спектроскопії X-Ray-аналізів [1, 6].

Вивчення цитотоксичної дії похідних ряду 2Н-пірано[2,3-с]піридинів. З метою дослідження впливу синтезованих сполук на живу клітину було вивчено цитотоксичну дію *in vitro* на моделі клітин кісткового мозку. Нами обрано експрес-метод [2], який забезпечує 100 % біодоступності досліджуваної речовини, відповідає вимогам біоетики та який можна вважати скринінговим. Суть його полягає в тому, що нативні клітини при суправітальному забарвленні розчином метиленового синього не пропускають барвник, а пошкоджені клітини сприймають забарвлення метиленового синього. У запропонованій методиці визначали концентрацію речовини, при якій спостерігається загибель 50 % клітин.

Для дослідження використовували клітини червоного кісткового мозку щурів, які отримували шляхом вимивання з кісток фізіологічним



R = 1 - H, 2 - 2-F, 3 - 3-F, 4 - 3-Cl, 5 - 4-Cl, 6 - 3,5-diMe, 7 - 4-CF₃, 8 - 2-F-4-Me, 9 - 3-Cl-4-Me, 10 - 3-Cl-4-OMe, 11 - 4-COOMe, 12 - 3,5-diCl, 13 - 2,4-diOMe, 14 - 3,5 - diOMe, 15 - 2-Cl-4-F, 16 - 2,3-diCl, 17 - 2,4 - diF, 18 - 2-Me, 19 - 3,4 - diCl, 20 - 3,4-diF

Рис. 1. Синтез похідних 2H-пірано[2,3-с]піридину.

розчином на холоді. Наважку (0,005 г) досліджуваної речовини 3{1-20} розчиняли в 1 мл ДМСО. Розчин в об'ємі 0,02 мл за допомогою дозатора вносили в планшкетку, де методом розведень зменшували концентрацію у 2, 4, 8 і т. д. разів. У кожну чарунку додавали по 0,02 мл суспензії клітин кісткового мозку. Як контроль використовували суспензію інтактних клітин у ДМСО. Як препарат порівняння застосовували преднізолон у концентрації 0,1 дози препарату. Час експозиції складав 0,5 год. Далі підраховували кількість забарвлених та незабарвлених клітин у кожній пробі. Проводили не менше п'яти визначень.

За результатами досліджень, синтезовані сполуки за їх впливом на живу клітину можна поділити на декілька груп. Так, значна кількість сполук даного ряду виявила токсичність на рівні $2\text{-}9 \times 10^{-4}$ мг/мл. Цитотоксичність сполук 3{6, 10, 16, 18} становила $2\text{-}4 \times 10^{-5}$ мг/мл, для сполуки 3{19} значення порогової концентрації виявилось найменшим – $1,6 \times 10^{-6}$ мг/мл.

QSAR-аналіз цитотоксичності. Для встановлення співвідношень між структурою молекул та біологічною дією синтезованих сполук було використано широкий набір молекулярних дескрипторів. Ці розрахунки проводили на основі напівемпіричного квантово-хімічного методу AM1, що добре зарекомендував себе при оптимізації геометрії органічних молекул. Для кожної з досліджуваних структур було визначено геометрію, на основі якої знайдено первинний набір дескрипторів, що включає більше ніж півтори тисячі величин. Значну їх частину розраховували за допомогою програми "DRAGON" [9]. Серед них найважливішими є молекулярна рефракція $MR(\text{Å}^3)$, поляризованість $\alpha(\text{Å}^3)$ і ліпофільність (MLOGP). Останній параметр визначали за методом Мorigучи [3], що становить собою різновид адитивної схеми. Крім того, за адитивними схемами розраховували величини, що є емпіричними оцінками різних атомних характеристик, наприклад середня атомна поляризованість (Mp). Серед топологічних дескрипторів

важливими вважають індекс Рандича ($\chi^{(1)}$) і набір теоретико-інформаційних індексів, які розраховували з урахуванням ближніх (IC_1) і дальніх (IC_2 , IC_3) сусідів. Індокси загребської групи (ZM1, ZM2) та індекс Вінера (W) також є цінними параметрами структури. Ці та інші величини описують ступінь зв'язності (розгалуження) молекулярної системи і добре характеризують топологію досліджуваних молекул.

Геометричні параметри молекул характеризували за трьома величинами: 3-D індексом Балабанова (J3D), індексом сферичності (SPH) та індексом асферичності молекули (ASP) [3]. З використанням адитивної схеми за допомогою значень вандерваальсових радіусів атомів було розраховано параметри, що характеризують геометричну структуру молекул: об'єм $V(\text{Å}^3)$ і площу поверхні $S(\text{Å}^2)$.

У межах методу AM1 розраховано ряд електронних дескрипторів: заряди на атомах (найбільший позитивний, q_{max} і найбільший негативний, q_{min}), дипольний момент – $\mu(D)$, енергії верхньої зайнятої ϵ_{HOMO} і нижньої вакантної ϵ_{LUMO} молекулярних орбіталей (eV), а також теплоту утворення молекули ΔH (ккал/моль).

Усі наведені дескриптори характеризують всю молекулу в цілому, а не окремі її замісники, як це має місце, наприклад, у підході Хенча і Фрі-Вільсона, що дає можливість використовувати наші моделі для відносно широкого набору хімічних структур.

Після встановлення первинного дескрипторного набору було проведено відбір найбільш значущих параметрів. Для цього розраховували матрицю кореляцій з метою виявлення величин, найтісніше пов'язаних з досліджуваними властивостями, зокрема з цитотоксичністю. У результаті кількість параметрів було значно зменшено і виділено набір із 28 величин. Подальше спрощення проводили з використанням факторного аналізу.

Як основний статистичний метод для аналізу типу "структура – властивість" обрано метод дискримінантних функцій (DF), що є одним із підходів теорії розпізнавання образів (pattern

recognition) [5]. Останнім часом цей метод знайшов широке використання і в контексті досліджень з біоактивності молекул [4]. Метод DF може бути зручним у тих випадках, коли побудову регресивної моделі біоактивності ускладнено з причин відсутності або неповноти експериментальних даних, а також тоді коли біоактивність препарату не має явного численного значення, а є лише вказівки на її наявність чи відсутність. Побудова DF дозволяє провести класифікацію хімічних препаратів за двома (або більше) рівнями активності. У даній роботі побудовано функцію, що дає можливість умовно класифікувати молекули як активні й неактивні в аспекті їх цитотоксичності.

Основна ідея DF полягає у виборі такого мінімального набору дескрипторів, при якому групи активних і неактивних молекул утворюють окремі кластери. При цьому молекули можна розглядати як умовні "точки" у багатомірному просторі дескрипторів. Після такого відбору функція DF визначається поверхнею у просторі багатьох вимірів, що найбільш адекватно поділяє групи активних і неактивних молекул. В окремих випадках лінійна DF будується як суперпозиція дескрипторів:

$$DF(d_1, d_2, K) = x_0 + x_1 d_1 + x_2 d_2 + K, \quad (1)$$

де x_0, x_1, x_2, K – коефіцієнти, що забезпечують ефективну класифікацію молекул;

d_1, d_2, K – відібрані дескриптори.

Рівняння типу

$$DF(d_1, d_2, K) = 0 \quad (2)$$

описує гіперплощину, що поділяє простір.

Знання відповідним чином відкаліброваної дає можливість проводити поділ молекул на активні та неактивні. При цьому критерій активності має вигляд нерівності:

$$DF(d_1, d_2, K) > 0 \quad (3)$$

У даній роботі проведено дискримінантний аналіз зв'язку $-\log(CD_{50})$ (CD_{50} – доза, при якій

спостерігається загибель 50 % клітин) зі структурними параметрами. При цьому передбачається, що системи, які мають значення є активними, в протилежному разі речовину вважають умовно малоактивною. Відбір дескрипторів за допомогою факторного аналізу і подальший розрахунок дискримінантної функції типу (1) дозволили сформулювати відносно просте правило, яке дає можливість відділити потенційно активні речовини, а саме: якщо нерівність $-25,22 + 15,11C_0 - 4,81C_1 + 0,15MR - 1,96\log P - 2,35\varepsilon_{LUMO} > 0$ (4)

для даної сполуки виконується, то така сполука є активною.

Для оцінки прогностичних можливостей одержаної нерівності використовували методику LOO (leave-one-out cross validation), в якій послідовно кожен систему (молекулу) викреслювали з навчальної вибірки і прогноз стосовно неї здійснювали на основі даних для інших молекул. У нашому випадку точність прогнозу LOO становила 81 %; 19 % неправильно класифікованих і формально активних молекул мали порогове значення активності $-\log(CD_{50}) \approx 3,5$.

ВИСНОВКИ. Розроблено методику та здійснено синтез систематичного ряду 5-гідроксиметил-2-іміно-8-метил-2Н-пірано[2,3-с]піридин-3-(N-арил)карбоксамідів; за допомогою методів ІЧ-, ПМР-спектроскопії та X-Ray-аналізу доведено їх будову.

1. Доведено доцільність використання методів біотестування для вивчення біологічної дії синтезованих сполук.

2. Одержано дискримінаційну функцію, яка дозволяє з високою точністю класифікувати похідні 5-гідроксиметил-2-іміно-8-метил-2Н-пірано[2,3-с]піридин-3-(N-арил)карбоксамідів за рівнем їх цитотоксичності та дає змогу цілеспрямовано прогнозувати цитотоксичність нових сполук на основі 2Н-пірано[2,3-с]піридинів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Журавель І.О., Коваленко С.М., Черних В.П., Казмірчук В.В. Синтез та протимікробна дія 2-іміно-5-гідроксиметил-8-метил-2Н-пірано[2,3-с]піридин-3-(N-арил)карбоксамідів // Журн. органіч. та фармацевт. хімії. – 2004. – 2, вип. 1. – С. 11-17.
2. Маркова В.М., Порохняк Л.А. Модифікація метода Шрека для определения антилитической активности препаратов и вновь синтезированных

соединений // III съезд фармакологов Туркменской ССР: Тез. докл. – Ашхабад, 1989. – С. 225-226.

3. Раевский О.А. Дескрипторы молекулярной структуры в компьютерном дизайне биологически активных веществ // Усп. химии. – 1999. – 68, № 6. – С. 555-576.

4. Филимонов Д.А., Поройков В.В., Караичева Е.И. и др. Компьютерное предсказание спектра

биологической активности химических веществ по их структурной формуле: компьютерная система PASS // Экспер. клинич. фармакол. – 1995. – **58**, № 2. – С. 56-62.

5. Jain A.K., Duin R.P.W., IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence. – 2000. – **22**, № 1. – P. 4-38.

6. Kovalenko S.M., Baumer V.N., Zhuravel' I.O., Chernykh V.P. {3-[(4-Chloroanilino)carbonyl]-2-[(3,4-dichlorophenyl)imino]-8-methyl-2H-pyrano[2,3-c]pyridin-5-yl}methyl acetate // Acta Cryst. – 2004. –

E60. – P. 187-189.

7. Kurasawa Y., Kureyama T., Yoshishiba N. et al. Synthesis of 1,2-Diazepino[3,4-b]quinoxalines and Pyrido[3',4':9,8][1,5,6]oxadiazonino[3,4-b]quinoxalines via a 1,3-Dipolar Cycloaddition Reaction // J. Heterocyclic Chemistry. – 1993. – **30**. – P. 537-541.

8. Miyashita K., Murafuji H., Iwaki H. et al. β -Replacement Reaction of Serine-O-carbonate Derivatives with Thiols Catalyzed by a Pyridoxal Model Having an Ionophore Side-Chain // Chem. Commun. – 2002. – № 17. – P. 1922-1923.

9. www.disat.unimib.it/chm.

ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ 5-ГИДРОКСИМЕТИЛ-2-ИМИНО-8-МЕТИЛ-2H-ПИРАНО[2,3-C]ПИРИДИН-3-(N-АРИЛ)КАРБОКСАМИДОВ

И.А. Журавель, Л.Н. Малоштан, В.М. Маркова, С.Н. Коваленко, В.В. Иванов¹
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ.В.Н.КАРАЗИНА, ХАРЬКОВ¹

Резюме

Осуществлен синтез 5-гидроксиметил-2-имино-8-метил-2H-пирано[2,3-с]пиридин-3-(N-арил)карбоксамидов. Структура полученных соединений доказана спектральными методами. Исследовано влияние синтезированных веществ на живую клетку. Проведен QSAR-анализ цитотоксичности веществ класса 2H-пирано[2,3-с]пиридинов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **пиридоксаль, 2H-пирано[2,3-с]пиридины, цитотоксическое действие, биологически активные вещества, QSAR-анализ.**

CYTOTOXIC ACTION OF 5-HYDROXYMETHYL-2-IMINO-8-METHYL-2H-PYRANO[2,3-C]PYRIDIN-3-(N-ARYL)CARBOXAMIDES

I.O. Zhuravel', L.M. Maloshtan, V.M. Markova, S.M. Kovalenko, V.V. Ivanov¹
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY OF UKRAINE, KHARKIV
NATIONAL UNIVERSITY BY V.N.KARAZIN, KHARKIV¹

Summary

The synthesis of 5-hydroxymethyl-2-imino-8-methyl-2H-pyrano[2,3-c]pyridin-3-(N-aryl)carboxamides was carried out. The structure of synthesized substances was confirmed by data of spectral methods. Influence of the compounds on a living cell was studied. The QSAR-analysis of cytotoxic action of 2H-pyrano[2,3-c]pyridines was conducted.

KEY WORDS: **pyridoxal, 2H-pyrano[2,3-c]pyridines, cytotoxic action, biologically active substances, QSAR-analysis.**

Отримано 3.09.2004 р.

Адреса для листування: *І.О. Журавель, кафедра органічної хімії, НФаУ, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.*

ВПЛИВ ПРЕПАРАТІВ ІЗ КСЕНОГЕННОЇ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ НА РІВЕНЬ ГЛІКЕМІЇ І ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНІ ПРОЦЕСИ У ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ

С.Є. Гальченко, І.В. Белочкіна, А.В. Мамонтова,
І.П. Михайлова, Б.П. Сандомирський

ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ НАН УКРАЇНИ, ХАРКІВ

У роботі порівнювали ефективність мікрофрагментів підшлункової залози новонароджених поросят і екстракту підшлункової залози статевозрілих свиней при алоксановому цукровому діабеті у щурів. Встановлено, що одноразова імплантація мікрофрагментів і щоденне введення екстракту протягом 7 днів сприяють зниженню рівня глюкози в крові й інтенсивності перекисного окислення ліпідів в організмі. Спостереження впродовж місяця показали дещо більшу ефективність екстракту, ніж мікрофрагментів. Зроблено висновок, що біологічно активні речовини, які входять до складу екстракту, корегують метаболічні порушення при експериментальному цукровому діабеті.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: перекисне окиснення ліпідів, алоксановий діабет, мікрофрагменти підшлункової залози, екстракт мікрофрагментів підшлункової залози.

ВСТУП. Удосконалювання і розширення спектра засобів корекції метаболічних порушень при цукровому діабеті (ЦД) на сьогодні є актуальним завданням. Існують експериментальні й клінічні свідчення ефективності імплантації β-клітин при даному захворюванні [2, 8], які певною мірою беруть на себе функцію підшлункової залози, а також сприяють її відновленню. Однак відомі проблеми імунологічної несумісності обмежують сферу застосування такого підходу до лікування ЦД. З іншого боку, є підходи до корекції порушень в органах шляхом введення препаратів низькомолекулярних органоспецифічних пептидів [9, 10]. Можна очікувати, що саме за рахунок стимуляції репараційних процесів у тканині антидіабетичний ефект може проявляти комплекс біологічно активних речовин, виділених з підшлункової залози (ПЗ) свиней [3].

Метою даного дослідження було порівняльне вивчення впливу імплантації кріоконсервованих мікрофрагментів підшлункової залози (МФПЗ) новонароджених поросят і введення екстракту кріоконсервованих мікрофрагментів підшлункової залози (ЕПЗ) свиней на

рівень глюкози в крові й показники перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у щурів з алоксановим діабетом.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на 80 статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-210 г, з них 10 тварин були контрольними. Алоксан-моногідрат (ICN Bio-medical Inc.) вводили під шкіру одноразово в дозі 130 мг/кг маси тварини після попереднього 24-годинного голодування при вільному доступі до води. Щурів, у яких на 7-му добу розвинувся ЦД (36 тварин), було поділено на три групи. 1-ша група лікування не отримувала. Щурам другої групи на 7-му добу під капсулу нирки було одноразово імплантовано під ефірним наркозом МФПЗ новонароджених поросят у дозі 0,5 г на тварину (інсулінопродукція дози – не менше 600 мкОд/добу). Технологію виготовлення препарату описано в [7]. У черевну порожнину щурів 3-ї групи з 7-ї до 14-ї доби щодня вводили по 1 мл ЕПЗ (концентрація пептидів – 100 мкг/мл). ЕПЗ отримували з кріоконсервованих МФПЗ шляхом їх інкубації у фізіологічному розчині й подальшого звільнення від термолабільних білків.

Ступінь глікемії та інтенсивності ПОЛ у сироватці крові та печінці визначали на 7, 15 і

© С.Є. Гальченко – к.біол.н., І.В. Белочкіна – к.біол.н., А.В. Мамонтова – к.біол.н., І.П. Михайлова, Б.П. Сандомирський – д.мед.н., проф., 2004.

30 доби після початку введення препаратів. Кров брали з хвостової вени, а декапітували тварин під легким ефірним наркозом. Рівень глюкози в сироватці крові визначали натще хромооксигеназним методом [5]. Рівень ПОЛ визначали вмістом продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активні продукти, ТБКАП) в сироватці крові, початковим, спонтанним, Fe^{2+} - і аскорбатіндукованим рівнем ТБКАП у гомогенаті печінки [1, 6], а також за інтенсивністю вільнорадикального окиснення ліпідів, яку визначали за величиною хемілюмінесценції (ХЛ) сироватки крові, застосовуючи хемілюмінометр. У комірку хемілюмінометра, що містила 1 мл фізіологічного розчину і 100 мкл сироватки крові або гомогенату печінки, додавали 100 мкл розчину двовалентного заліза в кінцевій концентрації $5 \cdot 10^{-2}$ моль або 100 мкл 5 % перекису водню, і реєстрували інтенсивність світіння (світлосуму) протягом 1 хв, результат виражали в умовних одиницях (ум. од.) [1]. Печінку гомогенізували у фізіологічному розчині у співвідношенні 1:3.

У роботі використовували реактиви марок ХЧ і ЧДА. Статистичну обробку отриманих результатів проводили за методом Стьюдента-Фішера.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У тварин з ЦД, які не отримували препаратів ПЗ, рівень глюкози в сироватці крові натще на 7-му добу перевищував норму в 2,5 раза, а на 15-ту – в 3,8 раза. На 30-ту добу спостереження він дещо зменшувався, але залишався значно вищим норми (табл. 1). У щурів, яким було введено МФПЗ, даний показник не змінювався до 15-ї доби і зменшувався на 30-ту, а при введенні ЕПЗ він знижувався і на 15-ту, і, ще більше, на 30-ту добу спостереження, перевищуючи норму в цей період усього в 1,3 раза.

Як відомо, значну роль у патогенезі ЦД і його ускладнень відводять вільнорадикальному окисненню, в тому числі ПОЛ. З іншого боку,

порушення механізмів інсулінової регуляції надходження глюкози в клітини призводять до збою звичайних механізмів енергозабезпечення. При цьому в метаболізм більш активно включаються жирні кислоти. Ненасичені жирні кислоти клітинних мембран можуть бути джерелом вільних радикалів, які призводять до розвитку ланцюгової реакції ПОЛ, а іони Fe^{2+} , які знаходяться в клітині, викликають розгалуження ланцюгів [4]. Це, зокрема, є одним із шляхів ще більшої активації перекисних процесів і накопичення в тканинах і крові ТБКАП при ЦД.

У випадку, коли ЦД не лікували, максимальна концентрація ТБКАП у сироватці крові спостерігалась на 15-ту добу експерименту з деяким зниженням на 30-ту (табл. 1). Максимум концентрації на 15-ту добу відмічено і при лікуванні щурів за допомогою МФПЗ, але при цьому концентрація ТБКАП на 30-ту добу достовірно була меншою, ніж у тварин, які не отримували лікування. При використанні для лікування ЕПЗ спостерігалось зниження концентрації кінцевих продуктів перекисного окиснення на 15-ту добу спостереження, на 30-ту добу кількість ТБКАП у сироватці крові достовірно не відрізнялася від значень, характерних для контрольних тварин, і вірогідно була меншою, ніж у щурів, яким вводили МФПЗ.

Якщо рівень ТБКАП дає інформацію про вміст прикінцевих продуктів ПОЛ, то інтенсивність ХЛ, індукованої Fe^{2+} , пропорційна кількості вільних радикалів у біологічному об'єкті й, таким чином, свідчить про початковий етап активації ПОЛ. ХЛ, індукована перекисом водню, дозволяє оцінити стійкість біологічного об'єкта до перекисного окиснення, яка залежить від багатьох факторів, але перш за все від потужності антиоксидних систем, що знешкоджують перекиси [1].

Як видно з таблиці 2, показники ХЛ сироватки крові, індукованої як Fe^{2+} , так і H_2O_2 , змінювалися більшою мірою, ніж рівень ТБКАП,

Таблиця 1 – Рівень глюкози та концентрація ТБКАП у сироватці крові щурів з ЦД

Показник	Умови експерименту	Строк спостереження, доби		
		7-ма	15-та	30-та
Рівень глюкози, Мн/л	Контроль	4,8±0,9		
	ЦД	13,1±1,5	20,2±1,2	16,1±2,1
	ЦД+МФПЗ	14,3±0,8	13,2,0±1,1 ²	8,5±0,8 ²
	ЦД+ЕПЗ	13,5±1,6	9,2±0,9 ^{2,3}	6,8±1,2 ²
Концентрація ТБКАП, нмоль/мл	Контроль	3,2±0,3		
	ЦД	5,6±0,4	7,8±0,5	6,1±0,4
	ЦД+МФПЗ	5,4±0,4	7,0±0,5	4,4±0,2 ²
	ЦД+ЕПЗ	5,8±0,4	5,2±0,4 ^{2,3}	3,7±0,2 ^{1,2,3}

Примітка. 1 – відмінності статистично не достовірні порівняно з контролем, $p > 0,05$; 2 – відмінності статистично достовірні порівняно з ЦД, $p < 0,05$; 3 – відмінності статистично достовірні порівняно з ЦД+МФПЗ, $p < 0,05$.

Таблиця 2 – Інтенсивність хемілюмінесценції (ум.од.) сироватки крові щурів

Умови експерименту	Індуктор ХЛ	Строк спостереження, доби		
		7-ма	15-та	30-та
Контроль	Fe ²⁺	118±11	127±10	109±9
	H ₂ O ₂	572±49	533±57	595±51
ЦД	Fe ²⁺	321±27	411±35	375±39
	H ₂ O ₂	2215±213	2399±227	2423±251
ЦД+МФПЗ	Fe ²⁺	335±23	371±29	229±21 ²
	H ₂ O ₂	2275±205	2238±194	1479±118 ²
ЦД+ЕПЗ	Fe ²⁺	349±36	294±31 ²	159±17 ^{2,3}
	H ₂ O ₂	2408±213	1875±175 ^{2,3}	653±61 ^{1,2,3}

Примітка. 1 – відмінності статистично не достовірні порівняно з контролем, p>0,05; 2 – відмінності статистично достовірні порівняно з ЦД, p<0,05; 3 – відмінності статистично достовірні порівняно з ЦД+МФПЗ, p<0,05.

і у щурів з ЦД на 15-ту і 30-ту доби перевищували контрольні значення більше ніж у 3-4 рази. На 15-ту добу обидва показники при всіх способах лікування були нижчими, ніж у тварин, які не отримували лікування, але до норми повертався тільки один показник.

Однією з причин високого рівня як початкових, так і кінцевих продуктів ПОЛ у плазмі крові можуть бути виснаження антиоксидних систем і порушення їх роботи. Крім того, деякі антиоксидні системи, наприклад SH-глутатіонпероксидаза, є енергозалежними. А при ЦД перш за все порушується забезпечення клітин і тканин енергією, до того ж на тлі активації процесів ПОЛ. Тобто виникає позитивний зворотний зв'язок, який полягає в тому, що порушення механізму утилізації глюкози призводить до інтенсифікації ПОЛ, а воно, у свою чергу, збільшує порушення механізмів метаболізму. Таким чином, зменшення інтенсивності ПОЛ при ЦД є актуальним завданням, і, як видно з представлених результатів, використані препарати сприяють нормалізації рівня ПОЛ у крові.

При цій патології збільшений рівень ПОЛ характерний не тільки для сироватки крові, але і для інших тканин та органів, зокрема для печінки (табл. 3). В тому випадку, коли ЦД не

лікували, початковий, спонтанний та Fe²⁺-індукований рівень ТБКАП у гомогенаті печінки під час усього періоду спостереження перевищував контроль в 1,4-1,6 рази. Аскорбатіндукований рівень на 7-му добу перевищував контроль у 2,2 рази, а на 30-ту дещо зменшився і перевищував контроль в 1,9 рази. Введення обох препаратів призвело до достовірного зниження на 30-ту добу спостереження показників ПОЛ відносно нелікованих тварин, а деякі з показників навіть повернулися до рівня контролю.

Таким чином, можна відмітити, що і МФПЗ, і ЕПЗ сприяють нормалізації процесів ПОЛ в організмі при ЦД, але в разі використання ЕПЗ зменшення інтенсивності пероксидації більш виражене.

Наведені дані дозволяють зробити такі висновки. Досліджені препарати (мікрофрагменти підшлункової залози новонароджених поросят і екстракт кріоконсервованих мікрофрагментів підшлункової залози статевозрілих свиней) сприяють зменшенню вмісту глюкози в крові, а також знижують рівень ПОЛ у сироватці крові та печінці щурів з алоксановим діабетом. При цьому нормалізація вивчених показників у разі застосування ЕПЗ більш виражена, ніж при використанні МФПЗ. Особливо зауважимо, що

Таблиця 3 – Рівень накопичення ТБКАП у гомогенаті печінки щурів з ЦД і при різних способах його лікування

Рівень ТБКАП, нмоль/мг тканини	Строк спостереження, доби	Умови експерименту			
		Контроль	ЦД	ЦД+МФПЗ	ЦД+ЕПЗ
Початковий	7-ма	3,9±0,3	5,4±0,4	5,1±0,3	4,7±0,3
	30-та	3,8±0,2	5,2±0,3	4,8±0,3 ³	4,4±0,5 ^{1,3}
Спонтанний	7-ма	4,7±0,3	6,7±0,5	6,7±0,4	6,9±0,5
	30-та	4,4±0,2	6,5±0,4	5,1±0,3 ^{1,2,3}	4,9±0,3 ^{1,2,3}
Fe ²⁺ -індукований	7-ма	5,4±0,4	8,7±0,7	8,8±0,5	8,5±0,6
	30-та	5,8±0,5	8,1±0,4	7,3±0,5	6,4±0,6 ^{1,2,3}
Аскорбат-індукований	7-ма	9,2±0,6	20,1±1,8	20,7±1,1	19,1±1,5
	30-та	9,4±0,7	18,4±1,1	14,9±0,9 ^{2,3}	11,7±0,9 ^{2,3,4}

Примітка. 1 – відмінності статистично не достовірні порівняно з контролем, p>0,05; 2 – відмінності статистично достовірні порівняно з 7-ю добою, p<0,05; 3 – відмінності статистично достовірні порівняно з тим же строком ЦД, p<0,05; 4 – відмінності статистично достовірні порівняно з ЦД+МФПЗ, p<0,05.

порівняння ефективності досліджуваних тканинних препаратів з ефективністю інсуліну не проводили, оскільки введення екзогенного інсуліну, дія якого, як відомо, обмежується годинами після введення, лише компенсує нестачу в організмі ендogenous інсуліну. Ми мали на меті визначити більш віддалений (1 місяць) ефект тканинних препаратів. Сьогодні розглядаються два можливих механізми дії імплантатів. Перший механізм полягає в тому, що імплантована тканина частково виконує функції хворої залози. Так, імплантація МФПЗ новонароджених поросят хворим на ЦД справляє позитивний вплив від кількох місяців до року і більше [11], тоді як неминуча імунна реакція організму на чужорідну тканину обмежує можливість специфічного функціонування ксеногенного імплантата протягом такого тривалого часу [12]. Інший механізм – це стимуляція імплантованою тканиною репаративних процесів у органі, пошкодженому біологічно активними речовинами, які виділяються імплантатом [2]. Найімовірніше, ті самі речовини містяться і в ЕПЗ, оскільки відомо, що в

екстрактах тканин є тканиноспецифічні пептиди, роль яких полягає і в регуляції клітинного циклу, тобто вони можуть сприяти репаративним процесам у відповідному органі [3]. Виходячи з цього, припускаємо, що механізм дії МФПЗ і ЕПЗ значною мірою подібний. Більша ефективність екстракту, порівняно з МФПЗ, може бути пов'язана з обмеженістю строку специфічного функціонування, тобто інсулінпродукції МФПЗ в організмі. Стимулювальна дія МФПЗ зменшується з часом у зв'язку із загибеллю клітин. Екстракт же вводили щурами протягом 7 діб, і, можливо, сумарна кількість та строк дії введених біологічно активних речовин, що стимулюють репаративні процеси в підшлунковій залозі тварин, більші, ніж при імплантації МФПЗ.

ВИСНОВОК. Отримані результати дозволяють стверджувати, що до складу екстракту входять біологічно активні видонеспецифічні речовини, які корегують метаболічні порушення при експериментальному цукровому діабеті.

ЛІТЕРАТУРА

1. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма / Метод. рекомендации. – С.Пб.: ИКФ Фолиант, 2000. – 104 с.
2. Дроздович І.І., Турчин І.С., Ларін О.С. Деякі аспекти дії ксенотрансплантата // Трансплантол. – 2003. – 4, № 1. – С. 81-83.
3. Зилов В.Г., Судаков К.В., Эпштейн О.И. Элементы информационной биологии и медицины. – М.: МГУЛ, 2000. – 248 с.
4. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. – С.Пб., 1999. – 512 с.
5. Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – С. 230-234.
6. Овсянников С.Е., Никитченко Ю.В., Мазалов В.К. и др. Перекисное окисление липидов в динамике самоотогрева после острого охлаждения организма крыс // Пробл. криобиологии. – 1996. – N 1. – С. 37-40.
7. Сандомирский Б.П., Волкова Н.А., Гальчен-
- ко С.Е., Белочкина И.В. Влияние режимов криоконсервирования на сохранность микрофрагментов поджелудочной железы поросят // Пробл. криобиологии. – 2000. – № 2. – С. 76-80.
8. Турчин І.С. Проблема трансплантації культур клітин і тканин залоз внутрішньої секреції хворим з різними формами ендокринопатії // Ендокринологія. – 1996. – 1, № 2. – С. 6-13.
9. Хавинсон В.Х. Тканеспецифическое действие пептидов // Бюл. эксперим. биол. и медицины. – 2001. – 132, № 8. – С. 228-229.
10. Matsui H., Tomizawa K., Lu Y.F., Matsushita M. Protein Therapy: in vivo protein transduction by polyarginine (11R) PTD and subcellular targeting delivery // Curr. Protein Pept. Sci. – 2003. – 4, № 2. – P. 151-157.
11. Nikonenko A.S., Kovalev A.A., Zavgorodnii S.N., Volkova N.A. Surgical treatment of insulin-dependent diabetes mellitus and its complications // Khirurgiia. – 1996. – № 2. – P. 81-83.
12. Smith R.M., Mandel T.E. Pancreatic islet xenotransplantation: the potential for tolerance induction // Immunology Today. – 2000. – 21, № 1. – P. 42-48.

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ ИЗ КСЕНОГЕННОЙ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА УРОВЕНЬ ГЛИКЕМИИ И СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

С.Е. Гальченко, И.В. Белочкина, А.В. Мамонтова, И.П. Михайлова, Б.П. Сандомирский
ИНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРИОБИОЛОГИИ И КРИОМЕДИЦИНЫ НАН УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ

Резюме

В работе сравнивали эффективность микрофрагментов поджелудочной железы новорожденных поросят и экстракта криоконсервированных микрофрагментов поджелудочной железы половозрелых свиней при аллоксановом сахарном диабете у крыс. Установлено, что однократная имплантация микрофрагментов и ежедневное введение экстракта на протяжении недели способствуют снижению уровня глюкозы в крови и интенсивности перекисного окисления липидов в организме. Наблюдения в течение месяца показали несколько большую эффективность экстракта, чем микрофрагментов. Сделан вывод, что биологически активные вещества, входящие в состав экстракта, корректируют метаболические нарушения при экспериментальном сахарном диабете.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: перекисное окисление липидов, аллоксановый диабет, микрофрагменты поджелудочной железы, экстракт микрофрагментов поджелудочной железы.

EFFECT OF PREPARATION FROM XENOGENIC PANCREAS ON GLYCEMIA LEVEL AND FREE-RADICAL PROCESSES IN RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

S.Y. Galchenko, I.V. Bielochkina, A.V. Mamontova, I.P. Mykhailova, B.P. Sandomyrsky
INSTITUTE FOR PROBLEMS OF CRYOBIOLOGY AND CRYOMEDICINE OF NAS OF UKRAINE, KHARKIV

Summary

The efficiency of newborn piglets pancreas microfragments and extract from pigs pancreas cryopreserved microfragments under experimental diabetes mellitus in rats has been studied in this comparative study. It was established that momentaneous implantation of microfragments and daily injection of the extract for one week promoted the decrease of glucose level in blood and lipid peroxidation intensity in the organism. The observations during the month showed a little higher efficiency of extract than microfragments. It was concluded that biologically active substances which are present in the extract provide correction of metabolic changes at experimental diabetes mellitus.

KEY WORDS: lipid peroxidation, alloxan diabetes mellitus, pancreas microfragments, extract from pancreas microfragments.

Отримано 14.05.2004 р.

Адреса для листування: С.Є. Гальченко, вуд. Корчагінців, 36, кв. 17, Харків, 61176, Україна.

Для отримання оперативної інформації звертайтеся
до нашої сторінки в Інтернеті:
www.tdmu.edu.te.ua

ЕЛАСТАЗИ, КАТЕПСИН G ТА ПРОДУКТИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ХВОРИХ НА ГІПЕРТОНІЧНУ ХВОРОБУ ІЗ СУПРОВІДНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2-ГО ТИПУ

Л.М. Самохіна, С.М. Коваль, Т.Г. Старченко, О.І. Войтенко, А.О. Несен
ІНСТИТУТ ТЕРАПІЇ АМН УКРАЇНИ, ХАРКІВ

У хворих на гіпертонічну хворобу (ГХ) II стадії із супровідним цукровим діабетом (ЦД) 2-го типу (ГХ II ст.+ЦД) виявлено зниження інтенсивності утворення кінцевих продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), яке прямо корелює із зміною активності еластази нейтрофілів і проявляється на фоні зростання активності еластази макрофагів та ендотеліоцитів, а також катепсину G; останні залучаються в деструктивні процеси після дії вільних радикалів і еластази нейтрофілів. Наявність ЦД при ГХ II ст. характеризується підвищенням активності нейтрофілів, ушкодженням ендотелію. ГХ II ст. властива єдність механізмів змін активності α -1-інгібітора протеїназ (α -1-ІП) і процесів ПОЛ на відміну від ГХ II ст.+ЦД, коли активація α -1-ІП зумовлена вивільненням протеїназ.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: еластаза, металоеластаза, ендотеліальна еластаза, катепсин G, еластазо-інгібіторна активність α -1-інгібітора протеїназ, перекисне окиснення ліпідів, гіпертонічна хвороба, цукровий діабет.

ВСТУП. Гіпертонічна хвороба (ГХ) характеризується наявністю хронічного оксидативного стресу, що розвивається внаслідок дисбалансу адаптивних можливостей ферментів антиоксидного захисту та активності вільнорадикальних процесів [8]. Кисневі радикали беруть участь у регуляції тону судин [17].

У хворих на цукровий діабет (ЦД) типу 1-го і 2-го типів судинні ускладнення відіграють провідну роль у структурі інвалідизації і смертності [16]. В основі найбільш ранніх проявів ангіопатій при ЦД лежить дисфункція ендотеліальних клітин судин. Саме ендотеліальні клітини беруть на себе "удар" метаболічних (гіперглікемія, дисліпідемія) і гемодинамічних (системна артеріальна і внутрішньокапілярна гіпертонія) факторів, що мають місце при ЦД. Внаслідок збільшення в клітинах концентрації супероксидного аніон-радикала подразнюються всі основні класи біологічних макромолекул і надмолекулярних комплексів [9]. Утворення окиснених білків сприяє їх розщепленню протеїназами, протеолітичні ферменти швидше розщеплюють окиснені білки, ніж нативні [7].

© Л.М. Самохіна – к.біол.н., С.М. Коваль – д.мед.н., проф., Т.Г. Старченко – к.мед.н., О.І. Войтенко, А.О. Несен – к.мед.н., 2004.

Такі протеїнази, як катепсин G, еластаза тощо, руйнують компоненти сполучної тканини судинної стінки, підвищують проникність ендотелію судин [12]. Важливе значення для функціонування судинної стінки мають серинова еластаза гладеньком'язових клітин, металоеластаза макрофагів і тіолова або цистеїнова еластаза ендотеліоцитів [6].

Існує точка зору, що метаболіти кисню, які вивільняються нейтрофілами, руйнують основні внутрішньоклітинні компоненти, зокрема викликають, дегрануляцію гранул нейтрофілів і виходу протеїназ у кров [2].

За умов активації окиснювальних процесів формуються захисні реакції, які спрямовані на гальмування вільнорадикального окиснення та забезпечення функціональної активності клітин [9]. Регуляція активності катепсину G, еластаз відбувається за участю α -1-інгібітора протеїназ (α -1-ІП) [10].

Метою роботи було визначити роль еластаз різного походження, катепсину G, α -1-ІП та процесів перекисного окиснення у патогенезі ГХ II ст. і супровідного ЦД 2-го типу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 16 хворих на ГХ II ст., 18 ГХ II ст.+ЦД 2-го типу і 8

здорових людей (контроль). Досліджували активність еластази, ендотеліальної еластази, металоеластази й еластазоінгібіторну активність α -1-ІП у сироватці крові високочутливим (10^{-9} - 10^{-10} г) ферментативним методом і вміст катепсину G – імуоферментним [13-15].

Принцип ферментативного методу базувався на використанні як субстрату протеолітичної реакції іммобілізованого на поверхні полістиролу маркерного ферменту (пероксидаза хрону), який попередньо було кон'юговано із субстратним білком.

Для оцінки еластази субстратом служив Ala-Ala, як контрольні зразки застосовували еластазу активністю від 0,0005 до 0,5 Од./мл.

З метою визначення активності ендотеліальної еластази (тіолова, цистеїнова) перед проведенням протеолітичної реакції окремо на титрувальній дошці здійснювали реакцію пригнічення активності серинової нейтрофільної еластази та металоеластази шляхом додавання 1:1 за об'ємом суміші 2-х інгібіторів, а саме: фенілсульфонілфториду та етилендіамінтетраацетату (ЕДТА). Інкубували 5 хв при 37 °С.

Для визначення активності металоеластази окремо на титрувальній дошці проводили реакцію пригнічення активності нейтрофільної та ендотеліальної еластази шляхом додавання 1:1 за об'ємом фенілсульфонілфториду та моноіодацетату, інкубували 5 хв при 37 °С.

Щоб визначити еластазоінгібіторну активність α -1-ІП, окремо проводили реакцію зв'язування інгібітора з еластазою активністю 0,5 Од./мл протягом 5 хв при 20 °С.

Після проведення протеолітичної реакції визначали залишкову активність маркерного ферменту за допомогою фотометра загального призначення фірми "Stat Fax" (США).

Вміст продуктів ПОЛ визначали в гептанізопропанольних екстрактах сироватки крові [5, 11]. Оптичну щільність визначали з використанням спектрофотометра СФ-26 (Росія).

У ході досліджень застосовували фенілметилсульфонілфлюорид, моноіодацетат, катепсин G, антитіла проти катепсину G людини фірми "ICN" (США), Ala-Ala фірми "Fluka",

гептан фірми "Merk" (Німеччина), ізопропіловий спирт (Нідерланди), пероксидазу хрону, ЕДТА, полістиролові стрипові плашки (Росія), натрій хлористий (Україна).

Статистичну обробку отриманих даних проводили за методом Стьюдента-Фішера.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У хворих на ГХ II ст. та ГХ II ст.+ЦД 2-го типу відзначено зниження активності серинової еластази (нейтрофільного походження) на фоні активації металоеластази (макрофагального походження), тіолової (ендотеліальної) еластази, катепсину G (нейтрофільного походження), що може свідчити про вичерпання еластази нейтрофілів та розвиток деструктивних процесів і включення додаткових джерел її вивільнення, а саме: макрофагів і ендотеліоцитів (табл. 1). Слід зауважити, що участь нейтрофілів у деструктивних процесах підтримується за рахунок катепсину G.

Відзначено, що активність еластази, ендотеліальної еластази при ГХ II ст.+ЦД вища, ніж при ГХ II ст., а металоеластази, навпаки, нижча, що може свідчити про зростання активності нейтрофілів, ушкодження ендотелію на фоні ЦД.

Аналіз змін еластазоінгібіторної активності α -1-ІП дозволив виявити її зниження при ГХ II стадії і зростання за умов ГХ II ст.+ЦД. Це може бути зумовлено окисненням α -1-ІП при ГХ II ст., а при ГХ II ст.+ЦД – участю даного інгібітора у пригніченні активованих протеїназ, його компенсаційною активацією на фоні вивільнення катепсину G нейтрофілами та еластази макрофагами й ендотеліоцитами.

Відзначено пригнічення інтенсивності процесів ПОЛ як при ГХ II ст., так і при ГХ II ст.+ЦД (табл. 2, 3). Це може бути зумовлено активацією антиоксидного захисту.

Відмінність змін показників ПОЛ виявлено у вираженому зростанні вмісту субстратів ПОЛ – ізольованих подвійних зв'язків (ІПЗ) і первинних продуктів – дієнових кон'югатів (ДК) у хворих на ГХ II ст., зменшенні рівня вторинних продуктів ПОЛ – кетодієнів та сполучених трієнів (КД+СТ), суттєво – у хворих на ГХ II ст.+ЦД,

Таблиця 1 – Активність еластази, еластазоінгібіторна активність α -1-ІП і вміст катепсину G у сироватці крові хворих на ГХ II ст. та ГХ II ст.+ЦД 2-го типу

Досліджені групи	Активність еластази, Од./мл	Активність металоеластази, Од./мл	Активність ендотеліальної еластази, Од./мл	Вміст катепсину G, мг/л	Еластазо-інгібіторна активність α -1-ІП, Од./мл
Контроль, n=8	5,00±1,25	5,00±1,75	14,75±0,75	0,20±0,05	237,5±0,5
ГХ II ст., n=16	0,50±0,19***	54,75±23,75***	38,75±22,5***	0,35±0,12***	213,5±4,0***
ГХ II ст.+ЦД, n=18	2,25±0,50***	21,75±10,25*	162,00±0,19*	0,45±0,12**	238,5±0,5*

Примітка. Тут і надалі: *, **, *** – зміни достовірні порівняно з контролем (p<0,05, p<0,01, p<0,001 відповідно).

Таблиця 2 – Вміст показників ПОЛ у НЛ сироватки крові у хворих на ГХ II ст. та ГХ II ст.+ЦД 2-го типу (DE/мл)

Досліджені групи	ІПЗ	ДК	КД+СТ	ОШ
Контроль	7,02±0,37	7,67±0,72	2,81±0,19	0,84±0,10
ГХ II ст.	9,95±0,54***	14,33±1,27**	2,45±0,17	0,15±0,04***
ГХ II ст.+ЦД	7,11±0,29	7,92±0,37	2,15±0,20***	0,67±0,07**

Таблиця 3 – Вміст показників ПОЛ у ФЛ сироватки крові хворих на ГХ II ст. та ГХ II ст.+ЦД 2-го типу (DE/мл)

Досліджені групи	ІПЗ	ДК	КД+СТ	ОШ
Контроль	9,63±1,59	7,33±0,86	2,27±0,24	0,44±0,12
ГХ II ст.	8,80±0,76	9,01±0,53	2,70±0,19	0,29±0,04
ГХ II ст.+ЦД	10,32±0,82	7,16±0,45	1,65±0,10***	0,25±0,06**

і кінцевих продуктів – основ Шифа (ОШ) у нейтральних ліпідах (НЛ) за умов обох патологічних станів, у (ФЛ) – достовірно при ГХ II ст.+ЦД. Слід також підкреслити, що зміни показників ПОЛ у НЛ при ГХ II ст. та ГХ II ст.+ЦД мають подібну направленість і більш виражені на 1-му етапі окиснення при ГХ II ст., а на кінцевих етапах – при ГХ II ст.+ЦД.

Слід зазначити, що при ГХ II ст. зниження еластазоінгібіторної активності α -1-ІП відбувається на фоні зростання вмісту субстратів і первинних продуктів ПОЛ. Це вказує на єдність механізмів змін у системі "протеїназа-інгібітор протеїназ" і процесах ПОЛ при ГХ II ст. Активація окиснювальних процесів призводить до окиснення метіоніну, активного центру α -1-ІП і зниження його еластазоінгібіторної активності, в результаті чого відбувається активація протеїназ, у даному разі металоеластази, ендотеліальної еластази, катепсину G.

Еластаза і катепсин G, які вивільнюються поліморфноядерними лейкоцитами, мають високий позитивний заряд, і їх катіонна природа може спричиняти ушкодження тканин за рахунок зміни заряду клітинної поверхні або збільшення зв'язування з мембранами клітин, компонентами позаклітинного матриксу [12].

Катепсин G у результаті взаємодії з ендотелієм судин призводить до затримки натрію в судинній стінці, що викликає її набряк і сприяє розвитку артеріальної гіпертонії [3]. Внаслідок деструктивної дії протеолітичних ферментів, у тому числі катепсину G, судинна стінка втрачає свою еластичність, стає ригідною до сили тиску току крові. Крім того, катепсин G може перетворювати ангіотензиноген і ангіотензин I (AI) у вазоконстрикторний пептид – All [2, 3, 4].

Особливе значення має здатність катепсину G збільшувати вивільнення активних форм кисню з макрофагів, тобто сприяти розвитку окиснювального стресу [2], утворенню продуктів ПОЛ. Але отримані дані вказують на

відсутність впливу катепсину G на процеси ПОЛ у групі хворих на ГХ II ст.+ЦД, що може свідчити про його безпосереднє витрачання на розвиток деструктивних і вазоконстрикторних ефектів. Можна припустити ймовірність сприяння катепсину G вивільненню макрофагами не тільки активних форм кисню, але й металоеластази.

Гідрофільні продукти окиснення ліпідів, які утворюються внаслідок ПОЛ, порушують цілісність ліпідного бішару мембран у гідрофобних ділянках, створюють умови для пасивного транспортування іонів і метаболітів, що призводить до порушення координації та специфіки мембранних процесів [1]. Спостерігаються алостеричні модифікації мембранозв'язаних ферментів зі зниженням ефективності реалізації функцій каналоутворювальних, інтегральних білків. Ушкодження мембран за умов активації ПОЛ пов'язане з вільним надходженням іонів калію, гідрогену, кальцію до клітини через полярні канали, що виникли внаслідок групування гідропероксидів ФЛ та їх латеральної дифузії [18]. Також активація ПОЛ впливає на білковий компонент мембран, що відбувається через окиснення сульфгідрильних груп білків, зміну фізико-хімічних властивостей ліпідного компонента мембран, і, таким чином, на ліпідобілкові взаємодії. Активація перекисного окиснення викликає утворення поперечних зшивок у білку, що відбувається за участю карбонільних продуктів ПОЛ та призводить до утворення його кінцевих продуктів – ОШ [4]. Більше вираження цих процесів на фоні ЦД вказує на значні патологічні ушкодження мембран, порушення мембранних процесів.

ВИСНОВКИ. 1. Зниження інтенсивності утворення кінцевих продуктів ПОЛ у хворих на ГХ II ст. і ГХ II ст.+ЦД прямо корелює з зміною активності серинової еластази нейтрофілів та проявляється на фоні зростання активності

еластази макрофагів і ендотеліоцитів, а також катепсину G.

2. Катепсин G, металоеластаза й ендотеліальна еластаза залучаються в деструктивні процеси при ГХ II ст. і ГХ II ст.+ЦД, які реалізуються після дії вільних радикалів і еластази, що вивільняються нейтрофілами.

3. Наявність ЦД при ГХ II ст. характеризується зростанням активності нейтрофілів, ушкодженням ендотелію.

4. ГХ II ст. властива єдність механізмів змін активності α -1-ІП і процесів ПОЛ на відміну від ГХ II ст.+ЦД, коли активація α -1-ІП зумовлена вивільненням протеїназ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А., Суたкой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и при патологии. – К.: Чернобыльинтеринформ, 1997. – 408 с.

2. Белова Л.А. Биохимия процессов воспаления и поражения сосудов. Роль нейтрофилов // Биохимия. – 1997. – **62**, № 6. – С. 659-669.

3. Белова Л.А., Оглоблина О.Г., Чихладзе Н.М. и др. Химотрипсинподобные протеиназы и их роль в патогенезе артериальных гипертензий // Фундаментальные и прикладные аспекты современной биохимии. – С.Пб., 1998. – **1**. – С. 176-179.

4. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов. – М.: Медицина, 1989. – 368 с.

5. Волчегорский И.Ф., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови // Вопросы мед. химии. – 1989. – **35**, № 6. – С. 127-131.

13. Пат. 34208А Україна, МПК G 01 N 33/48, А 61 В 19/02. Набір для визначення активності нетрипсिनоподібних протеїназ, хімази, еластазоінгібіторної активності α -1-інгібітора протеїназ та α -2-макроглобуліна в біологічних рідинах / Л.М. Самохіна. – Опубл. 15.02.01. – Бюл. № 1. – 3 с.

15. Пат. 45068А Україна, МПК G 01 N 33/48, А 61 В 19/02. Набір для визначення активності ендотеліальної еластази в біологічних рідинах / Л.М. Самохіна, Н.А. Максимова. – Опубл. 15.03.02. – Бюл. № 3. – 3 с.

14. Пат. 44066А Україна, МПК G 01 N 33/48. Набір для визначення активності або концентрації катепсину G в біологічних рідинах / Л.М. Самохіна, Н.О. Кравченко, Н.А. Максимова. – Опубл. 15.01.02. – Бюл. № 1. – 3 с.

6. Досенко В.Е. Определение различных форм эластазы в аорте при экспериментальном артериосклерозе // Лаб. диагностика. – 1998. – № 1. – С. 24.

7. Дубинина Е.Е., Леонова Н.В., Зыбина Н.Н. и

др. Окислительная деструкция белков, особенности окислительной модификации белков с использованием модельных систем и в плазме крови пожилых людей с деменциями // Фундаментальные и прикладные аспекты современной биохимии: Труды научн. конф., посвящ. 100-летию каф. биохимии Санкт-Петербург. гос. мед. ун-та им. акад. И.П. Павлова. – С.Пб.: СПбГМУ, 1998. – С. 425-429.

8. Ельчанинова С.А., Галактионова Л.П., Толмачева Н.В., Варшавский Б.Я. Активность внутриклеточных антиоксидантных ферментов у больных ГБ // Тер. архив. – 2000. – **72**, № 4. – С. 51-53.

9. Калиман П.А., Загайко А.Л., Шаламов Р.В. и др. Содержание и состав липопротеинов крови и печени крыс и некоторые показатели окислительного стресса при введении хлорида кобальта // Укр. биохим. журн. – 1997. – **69**, № 5-6. – С. 138-148.

11. Львовская Е.И., Волчегорский И.А., Шемяков С.Е., Лифшиц Р.И. Спектрофотометрическое определение конечных продуктов перекисного окисления липидов // Вопросы мед. химии. – 1991. – **37**, № 1. – С. 92-93.

10. Лизосомы. Методы исследования / Под ред. Дж. Дингла. – М.: Мир, 1980. – 342 с.

12. Оглоблина О.Г., Белова Л.А., Архакова И.А. и др. Биохимические и клинические аспекты участия гранулоцитов и их протеиназ в поражении стенки сосудов // Тер. архив. – 1996. – № 5. – С. 78-80.

16. Шестакова М.В., Ярек-Мартынов И.Р., Иващенко Н.С., Дедов И.И. Оценка вазомоторной функции эндотелия у больных сахарным диабетом типа 1 на разных стадиях диабетической нефропатии // Тер. архив. – 2003. – **75**, № 6. – С. 17-21.

17. Kahler J., Ewert A., Weckmuller J. et al. Oxidative stress increases endothelin-1 synthesis in human coronary artery smooth muscle cells // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2001. – **38**, № 1. – P. 49-57.

18. Vance D.E., Vance J. Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes. – Amsterdam: Elsevier, 1996. – 403 p.

ЭЛАСТАЗЫ, КАТЕПСИН G И ПРОДУКТЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У БОЛЬНЫХ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ С СОПУТСТВУЮЩИМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА

Л.М. Самохина, С.Н. Коваль, Т.Г. Старченко, Е.И. Войтенко, А.А. Несен
ИНСТИТУТ ТЕРАПИИ АМН УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ

Резюме

У больных гипертонической болезнью (ГБ) II стадии с сопутствующим сахарным диабетом (СД) 2-го типа (ГБ II ст.+СД) выявлено снижение интенсивности образования конечных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), что прямо коррелирует с изменением активности эластазы нейтрофилов и проявляется на фоне возрастания активности эластазы макрофагов и эндотелиоцитов, а также катепсина G; последние вовлекаются в деструктивные процессы после действия свободных радикалов и эластазы нейтрофилов. Наличие СД при ГБ II ст. характеризуется повышением активности нейтрофилов, повреждением эндотелия. ГБ II ст. свойственна еднoсть механизмов изменений активности α -1-ингибитора протеиназ (α -1-ИП) и процессов ПОЛ в отличие от ГБ II ст.+СД, когда активация α -1-ИП обусловлена высвобождением протеиназ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: эластаза, металлоэластаза, эндотелиальная эластаза, катепсин G, эластазоингибиторная активность α -1-ингибитора протеиназ, перекисное окисление липидов, артериальная гипертоническая болезнь, сахарный диабет.

ELASTASES, CATHEPSINE G AND PRODUCTS OF LIPID PEROXIDATION IN THE PATIENTS WITH HYPERTENSION AND CONCOMITANT TYPE 2 DIABETES MELLITUS

L.M. Samokhina, S.M. Koval, T.G. Starchenko, O.I. Voytenko, A.O. Nesen
INSTITUTE OF THERAPY OF AMS OF UKRAINE, KHARKIV

Summary

In patients with essential hypertension (EH) and concomitant type 2 diabetes mellitus (DM) (EH+DM) the reduction of intensity of lipid peroxidation (LPO) final products' formation has been revealed. This directly correlates with the change of neutrophile elastase activity and appears against the background of increase of activity of both macrophages' and endotheliocytes' elastase and cathepsine G. The latter ones are involved into the destructive processes after participation of free radicals and neutrophile elastase. The presence of DM at EH is characterized by the increase of neutrophiles activity and endothelium damage. EH alone is characterized by a combination of mechanisms of changes in α -1-proteinase inhibitor (α -1-PI) and LPO activity, whereas at (EH+DM) the activation of α -1-PI is caused by the release of proteinases.

KEY WORDS: elastase, metalloelastase, endothelial elastase, cathepsine G, elastase-inhibitory activity of α -1-proteinase inhibitor, lipid peroxidation, arterial hypertension, diabetes mellitus.

Отримано 24.05.2004 р.

Адреса для листування: Л.М. Самохіна, вул. Шарикова, 54, кв. 8, Харків, 61189, Україна.

КЛІНІЧНІ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ЛІЗОСОМНИХ ЦИСТЕЇНОВИХ ПРОТЕЇНАЗ КРОВІ

В.І. Чорна¹, О.Л. Лянна¹, Т.П. Николаєнко², М.І. Хворостенко³
ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ¹
МІСЬКА БАГАТОПРОФІЛЬНА КЛІНІЧНА ЛІКАРНЯ № 4, ДНІПРОПЕТРОВСЬК²
ОБЛАСНА КЛІНІЧНА ЛІКАРНЯ ІМ. І.І. МЕЧНІКОВА, ДНІПРОПЕТРОВСЬК³

Метою даної роботи було дослідження рівнів активності лізосомних цистеїнових катепсинів В та L в плазмі крові здорових людей і хворих на рак. Встановлено, що активність катепсину L має різноспрямований характер залежно від ступеня злоякісності пухлини. Найвищий рівень активності катепсину L відмічали в плазмі крові хворих з менінгіомами головного мозку. З'ясовано, що цистеїнові катепсини В та L у сироватці, лімфо- та лейкоконцентрах здорової людини відрізняються не тільки кількістю, але і наявністю різних форм зв'язку ферментів із субклітинними структурами.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: лізосомні цистеїнові катепсини, плазма, канцерогенез.

ВСТУП. Визначення активності цистеїнових катепсинів у біологічних рідинах надає важливу інформацію про стан протеолізу в цілісному організмі. За зміною активності тканинних лізосомних катепсинів у крові можна визначити ступінь катаболізму білків і роль протеолізу в розвитку та перебізі пухлинного процесу, адже зміни активності катепсинів мають різну спрямованість на різних стадіях канцерогенезу [5]. Крім того, визначення активності цих білків у сироватці крові може мати як діагностичне, так і прогностичне значення при виконанні завдань оптимальної терапії онкологічних захворювань та об'єктивному оцінюванні реакції тканин організму на пухлинну трансформацію. Відомо, що поширенню пухлин, росту та метастазуванню властива деградація екстрацелюлярного матриксу. Безпосередню участь у руйнуванні компонентів екстрацелюлярного матриксу приймають лізосомні цистеїнові катепсини [5]. Існують дані про те, що цистеїнові протеїнази залучені до формування нових кровоносних судин, які забезпечують живлення пухлин [6]. Встановлено тісний зв'язок між мРНК, активністю та білковим рівнем цистеїнових протеїназ у пухлині із тривалістю життя

хворого на рак [5]. Але всі функції протеїназ і їх конкретну роль у розвитку пухлинного процесу ще не з'ясовано. Вивчення цього питання повинно не тільки сприяти розумінню механізмів онкологічних захворювань, але й визначати шляхи діагностики і терапії.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Метою даної роботи було визначення рівнів активності лізосомних цистеїнових катепсинів у плазмі крові хворих (віком 35-70 років) зі злоякісними пухлинами головного мозку (гліобластома, астроцитома, менінгіома) та ротової порожнини (карцинома). Сироватку крові, яку використовували як норму, а також лімфо- та лейкоконцентрати [3] здорових людей (середній вік складав 30-55 років) досліджували на ступінь солюбілізації під впливом детергенту тритону X-100. Активність катепсину В у дослідних пробах встановлювали відносно субстрату N, α -бензоіл-D,L-аргініну-p-нітроаніліду (FluKa, Switzerland) і виражали в мкМ p-нітроаніліну за 1 хв на 1 мг білка [2]. Активність катепсину L визначали відносно азоказеїну (1 %), денатурованого сечовиною (3,0 M), і виражали в умовних одиницях на 1 мг білка згідно з інтенсивністю абсорбції при довжині хвилі 366 нм за 1 хв [1]. Загальну кількість білка визначали за методом

© В.І. Чорна, О.Л. Лянна, Т.П. Николаєнко, М.І. Хворостенко, 2004.

[4]. Статистичну обробку результатів виконували з використанням t-критерію Стюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Відомо, що лейкоцити характеризуються значною ферментативною активністю і особливу активність проявляють лізосомні ферменти [3]. Встановлено, що фагоцитоз пов'язаний з виходом у міжклітинний простір саме цих лізосомних ферментів, які руйнують бактерії або інші чужорідні речовини, що потрапили до клітини. За відсутності деяких лізосомних ферментів у клітинах накопичується велика кількість різних субстратів, що призводить до послаблення біологічної і, перш за все, захисної дії лізосом. З іншого боку, відомо, що за наявності неіонного детергенту (тритону X-100) змінюється активність і солюбілізація кислих протеїназ. З одержаних нами даних (рис. 1 та 2) видно, що зростання концентрації тритону X-100 з 0,2 до 1 % призводить до повної солюбілізації катепсину В та L із лізосом як у лімфо-, так і в лейкоконцентрах. Це дає підставу вважати, що значна частина активності кислих протеїназ дійсно припадає на міцно зв'язані із субклітинними структурами. Встановлено істотну відмінність у локалізації активності катепсину В, яка зосереджена переважно в лімфоцитах, і катепсину L, більша кількість якого визначилась у лейкоцитах. Сукупність результатів, отриманих нами у здорових людей, дає змогу припустити, що цистеїнові катепсини В та L у сироватці, лімфо- та лейкоконцентрах відрізняються не тільки кількістю, але й наявністю різних форм зв'язку ферментів із субклітинними структурами. У плазмі крові онкологічних хворих встановлено вірогідні зміни активності катепсину L порівняно з нормою, тоді як активність катепсину В не відрізнялась від нормальних показників. Підвищений рівень активності катепсину В спостерігали в сироватці крові хворих на рак молочної залози, яєчників, печінки, товстої кишки та легень [6]. У пацієнтів з колоректальною карциномою та карциномою сечового міхура рівні активності катепсину В корелювали зі стадією розвитку ракової пухлини [9].

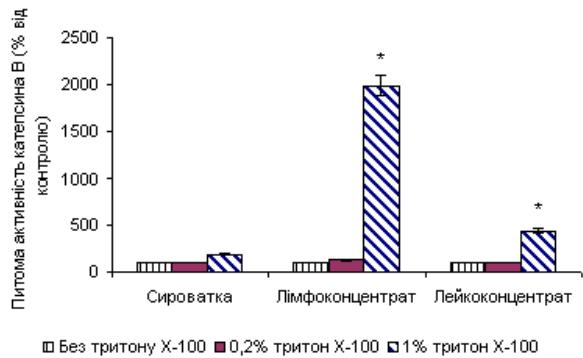


Рис. 1. Активність катепсину В.

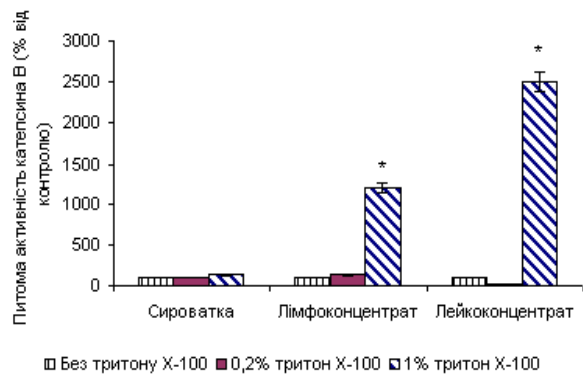


Рис. 2. Активність катепсину L.

Достовірно підвищення активності катепсину L в плазмі крові відмічається при злоякісній формі захворювання ротової порожнини та деяких пухлинах головного мозку (гліобластома та менінгіома) (табл. 1). Встановлено, що найбільший рівень активності катепсину L у плазмі крові хворих на рак головного мозку спостерігається при менінгіомах. Згідно з даними літератури, активність цієї протеїнази підвищена в сироватці крові хворих на рак молочної залози, підшлункової залози, печінки та товстої кишки [9]. Можливо, визначені нами зміни активності досліджуваних пептидгідролаз пояснюються і дією інгібіторів цистеїнових катепсинів крові.

Згідно з даними літератури, в сироватці крові хворих на колоректальний рак відмічається високий рівень активності інгібіторів лізосомних цистеїнових катепсинів – стефіну А та цистатину С, при цьому активність стефіну

Таблиця 1 – Активність катепсину L в плазмі крові

Патологічні процеси		Активність катепсину L, ум. од./мг білка (M±m)
Плазма крові здорової людини (n=10)		0,012±0,003
Захворювання ротової порожнини	Карцинома (n=2)	0,029±0,008*
	Гліобластома (n=8)	0,016±0,004*
Пухлини головного мозку	Астроцитиома (n=4)	0,011±0,004
	Менінгіома (n=3)	0,083±0,03*

Примітка. * – p<0,05 порівнян з контролем.

В – ще одного інгібітора цистеїнових протеїназ – не демонструвала суттєвих відмінностей від нормальних показників [7]. Відомо, що стефін А ефективно діє відносно до катеписину В. Великий вміст стефіну В та цистатину С у сироватці крові пацієнтів вказує на високий ризик смерті хворого, тоді як стефін А такого прогностичного значення не має [8]. Отже, можна зробити припущення, що однією з причин відсутності активності катеписину В у сироватці крові при досліджуваних онкологічних захворюваннях є підвищена дія інгібіторів лізосомних протеїназ крові.

ВИСНОВКИ. Використання моніторингу рівнів активності у фізіологічних рідинах надає можливість робити не лише діагностичні висновки, а й прогностичні припущення щодо перебігу досліджуваних патологічних станів. А вивчення активності цистеїнових пептидгідролаз у плазмі крові має велике як теоретичне, так і практичне значення для вирішення проблем розуміння загальних механізмів канцерогенезу, оскільки таке дослідження можна проводити не тільки на тваринах, але і в клінічних умовах.

ЛІТЕРАТУРА

1. Березин В.А., Черная В.И., Рева А.Д. Очистка и некоторые свойства тиолактивируемых катеписинов из коры больших полушарий головного мозга и мозжечка быка // Укр. биохим. журн. – 1982. – **54**. – С. 249-253.
2. Черная В.И. Изучение активности катеписина В в опухолях головного мозга человека // Доповіді Національної академії наук України. – 1999. – **2**. – С. 172-176.
3. Чернушенко Е.Ф., Когосова Л.С. Унифицированные иммунологические методы обследования больных на стационарном и амбулаторном этапе лечения. – К., 1998. – 268 с.
4. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. – 1976. – **72**. – P. 248-250.
5. Koblinski J.E. Unraveling the role of proteases

- in cancer // Clin. Chim. Acta. – 2000. – **291**. – P. 113-135.
6. Kos J., Lah T. Cysteine proteinases and their endogenous inhibitors: Target proteins for prognosis, diagnosis and therapy in cancer // Oncol. Rep. – 1998. – **5**. – P. 1349-1361.
7. Kos J., Krasovec M. Cysteine proteinase inhibitors stefin A, stefin B and cystatin C in sera from patients with colorectal cancer: relation to prognosis // Clin. Cancer Res. – 2000. – **6**. – P. 505-511.
8. Kos J., Schweiger A. Cathepsins and cystatins in extracellular fluids – useful biological markers in cancer // Radiol. Oncol. – 2002. – **36**, № 2. – P. 176-179.
9. Makarewicz R., Drewa G. Cathepsin B in predicting the extend of cervix carcinoma // Neoplasma. – 1995. – **42**. – P. 21-24.
10. Sloane B.F. Cathepsin B and cystatins: evidence for a role in cancer progression // Seminars in Cancer Biology. – 1990. – **1**. – P. 137-152.

КЛИНИЧЕСКИЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛИЗОСОМНЫХ ЦИСТЕИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ КРОВИ

В.И. Черная¹, О.Л. Лянная¹, Т.П. Николаенко², М.И. Хворостенко³
ДНЕПРОПЕТРОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ¹

ГОРОДСКАЯ МНОГОПРОФИЛЬНАЯ КЛИНИЧЕСКАЯ БОЛЬНИЦА № 4, ДНЕПРОПЕТРОВСК²
ОБЛАСТНАЯ КЛИНИЧЕСКАЯ БОЛЬНИЦА ИМ. И.И. МЕЧНИКОВА, ДНЕПРОПЕТРОВСК³

Резюме

Целью данной работы было исследование уровней активности лизосомных цистеиновых катеписинов В и L в плазме крови здоровых людей и больных раком. Установлено, что активность катеписина L имеет

разнонаправленный характер в зависимости от степени злокачественности опухоли. Наивысший уровень активности катепсина L отмечали в плазме крови больных с менингиомами головного мозга. Выяснено, что цистеиновые катепсины B и L в сыворотке, лимфо- и лейкоконцентрах здорового человека отличаются не только количеством, но и наличием разных форм связи ферментов с субклеточными структурами.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: лизосомные цистеиновые катепсины, плазма, канцерогенез.

CLINICAL AND EXPERIMENTAL RESEARCHES OF BLOOD LYSOSOMAL CYSTEINE PROTEINASES

V.I. Chorna¹, O.L. Lyanna¹, T.P. Nikolayenko², M.I. Khvorostenko³
DNIPROPETROVSK NATIONAL UNIVERSITY¹
MUNICIPAL MULTIFIELD CLINICAL HOSPITAL № 4, DNIPROPETROVSK²
3 REGIONAL CLINICAL HOSPITAL BY I.I. MECHNIKOV, DNIPROPETROVSK³

Summary

The aim of this work was to investigate the lysosomal cysteine cathepsins B and L activity levels in plasma of healthy and cancer patients. It was defined that cathepsin L activity was different and depended on malignancy grade. The highest level of cathepsin L activity was found out in plasma of patients with brain meningioma. It was determined that cysteine cathepsins B and L in serum, lympho- and leukoconcentrates of healthy person differ not only quantitatively, but also by different connection forms of the enzymes with subcellular structures.

KEY WORDS: lysosomal cysteine cathepsins, plasma, carcinogenesis.

Отримано 7.09.2004 р.

Адреса для листування: В.І. Чорна, Дніпропетровський національний університет, пров. Науковий, 13, Дніпропетровськ, 49050, Україна.

ВИДАВНИЦТВО "УКРМЕДКНИГА"

Передплатні видання Тернопільського державного
медичного університету 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

ПОКАЗНИКИ ЕНДОГЕННІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ, ОКСИДАТИВНОГО ТА НІТРОЗАТИВНОГО СТРЕСІВ ПРИ ОПІКАХ ШКІРИ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ЗАСТОСУВАННЯ МЕКСИДОЛУ І ТРИМЕТАЗИДИНУ

К.Ю. Дмитрієва

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА

У досліджах на 48 щурах показано, що опікова травма шкіри площею 20 % вже з першої доби викликає збільшення в сироватці крові вмісту молекул середньої маси, карбонільних груп, нітратів та нітритів, підвищення активності ксантинооксидази в печінці та зниження рівня фосфоліпідів у мікросомальних мембранах. Зменшується стійкість мікросомальних мембран до дії дезоксихолату і трипсину та зростає активність нейтрофільної мієлопероксидази в стінці кишечника та печінці, що свідчить про транслокацію мікроорганізмів з кишечника. Ці зміни максимально проявляються впродовж першого тижня опікової хвороби, поступова нормалізація відбувається протягом місяця. Мексидол і, особливо, триметазидин значно прискорюють видужання обпечених тварин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: опік, інтоксикація, оксидативний та нітрозативний стреси, триметазидин, мексидол.

ВСТУП. У патогенезі опікової хвороби чільне місце належить синдромам ендогенної інтоксикації, системної запальної відповіді та активації вільнорадикальних процесів, вираження яких значною мірою визначає прогноз та тривалість лікування. Застосування антиоксидантних вітамінів (аскорбінової кислоти, токоферолу або ретинолу) підвищує ефективність лікування пацієнтів [4]. Механізм дії антиоксидантів традиційно пов'язується з гальмуванням процесів пероксидації ліпідів, але їх вплив на інші ланки патогенезу опікової хвороби залишається невідомим.

Метою роботи було оцінити вплив синтетичних антиоксидантів мексидолу та триметазидину на перебіг інтоксикаційного синдрому, нітрозативного й оксидативного стресів у щурів з опіками.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на 48 щурах-самцях популяції Вістар масою 190-230 г. Під тіопенталовим наркозом (25 мг/кг) було викликано термічний опік III ступеня площею 20 % шляхом прикладання на 6 с до депільованої шкіри спини мідної пластини, нагрітої до 90 °С. Триметазидин (10 мг/кг) та мексидол (50 мг/кг) вводили в шлунок протягом 28 днів, починаючи з першого дня з моменту нанесення опіку. Нітрити та нітрати в © К.Ю. Дмитрієва, 2004.

сироватці крові визначали за реакцією Гріса [2]. Нітрати відновлювали до нітритів сумішшю цинкового порошку та розчину аміаку. Вміст молекул середньої маси визначали спектрофотометричним методом [1], а карбонільних груп білків – за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином [6]. Мікросомну фракцію печінки отримували методом осадження двовалентними катіонами [5]. Активність ксантинооксидази [КФ 1.1.3.22] визначали за кількістю сечової кислоти, утвореної при окисненні ксантину [9], вміст фосфоліпідів – екстракційно-фотометричним методом [3], білків – біуретовим методом. Солюбілізацію білкового і фосфоліпідного компонентів мембран вивчали шляхом переосадження мікросом після їх обробки дезоксихолатом натрію (кінцева концентрація – 0,05 %) чи трипсином (40 мкг на 1 мг білка) або комбінацією цих речовин. Активність мієлопероксидази в гомогенатах печінки та тонкої кишки оцінювали ортодіанізидиновим методом [7].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Починаючи з першої доби з моменту нанесення опіку, різко зростає вміст молекул середньої маси, карбонільних груп, нітратів та нітритів у сироватці крові, підвищувалася активність ксантинооксидази в гомогенаті печінки, знижувався рівень фосфоліпідів у мікросомах (табл. 1). Ма-

ксімальні зміни проявилися в перший тиждень досліджу, однак і на 28-й день ще реєстрували достовірні відмінності за більшістю показників. Застосування мексидолу та триметазидину значною мірою протидіяло розвитку негативних змін в обміні речовин. Так, якщо у нелікованих щурів на третій день досліджу вміст молекул середньої маси зростав на 206 %, то у тварин, які отримували мексидол або триметазидин, – лише на 167 та 144 % відповідно. Подібні закономірності простежували і за іншими показниками.

У щурів, які отримували антиоксиданти, показники нормалізувались швидшими темпами, і вже на 14-й день рівень молекул середньої маси у цих тварин достовірно не відрізнявся від контролю, а вміст інших показників майже нормалізувався. При цьому протекторна дія триметазидину переважала таку в мексидолу. Слід підкреслити, що триметазидин значно переважав мексидол за здатністю гальмувати нітрозативний стрес, зокрема рівень метаболітів оксиду азоту в групі триметазидину був достовірно нижчим, ніж у групі мексидолу ($p < 0,05$), упродовж усього терміну спостереження.

Стан мембранного апарату печінки ми оцінювали за солюбілізацією компонентів мем-

бран під впливом мембранних пертурбантів – дезоксихолату натрію і трипсину. Відомо, що детергенти вбудовуються в гідрофобний шар мембрани і вилучають з неї компоненти, які утримуються завдяки гідрофобним взаємодіям. Трипсин як велика гідрофільна молекула не проникає крізь ліпідний шар мембрани, а солюбілізує білки, розташовані на зовнішній поверхні мікросомного міхурця. У присутності дезоксихолату для трипсину стали доступні й білки, розміщені на внутрішній стороні мікросомальної мембрани.

Опікова травма суттєво посилювала солюбілізацію білків та фосфоліпідів мікросомальних мембран (табл. 2). Якщо в інтактних тварин дезоксихолат вилучав з мембран 6,5 % білків та 3,4 % фосфоліпідів, то у нелікованих щурів з опіками, – 19,4 і 13,5 % відповідно. В інтактних тварин трипсину були доступні 36,8 % білків та 6,9 % фосфоліпідів, а в щурів з опіками – 62,2 та 21,3 %. Введення антиоксидантів значною мірою послаблювало пошкодження мембран печінки обпечених щурів, причому триметазидин виявився ефективнішим протектором, ніж мексидол, особливо відносно мембранних фосфоліпідів.

Несприятливим наслідком опіків є транслокація мікроорганізмів з порожнини кишеч-

Таблиця 1 – Вміст молекул середньої маси (MCM), карбонільних груп, метаболітів оксиду азоту в сироватці крові, рівень фосфоліпідів і активність ксантиноксидази в мікросомах печінки щурів після опіку шкіри на фоні введення триметазидину або мексидолу ($M \pm$, $n=8-10$)

Групи тварин	Сироватка крові			Печінка	
	MCM, од. опт. щільності	Карбонільні групи, од. опт. щільності	Нітрати і нітрити, мкмоль/л	Ксантиноксидаза, нмоль/хв/мг білка	Фосфоліпіди, мкг/мг білка
Контроль	0,180±0,010	0,220±0,011	38,0±3,5	0,900±0,060	323±18
1-й день					
Опік	0,340±0,017	0,420±0,020	128,0±7,8	1,88±0,11*	301±15
Опік+триметазидин	0,240±0,012*	0,300±0,020*	86,5±6,0*	1,31±0,09*	310±15
Опік+мексидол	0,280±0,012*	0,350±0,014*	106,0±6,2	1,54±0,09*	306±14
3-й день					
Опік	0,370±0,022	0,450±0,021	158±10	1,79±0,11*	250±13
Опік+триметазидин	0,260±0,014*	0,330±0,014*	89,0±7,1*	1,23±0,09*	290±11*
Опік+мексидол	0,300±0,013*	0,390±0,016*	122,0±6,4*	1,47±0,08*	279±13
Контроль	0,189±0,013	0,210±0,014	42,0±4,8	0,86±0,05	328±15
7-й день					
Опік	0,320±0,013	0,420±0,015	133,0±6,5	1,63±0,08*	243±14
Опік+триметазидин	0,240±0,012*	0,330±0,015*	84,0±6,7*	1,09±0,08*	283±11*
Опік+мексидол	0,280±0,011*	0,370±0,014*	108,0±6,8*	1,36±0,08*	266±10*
14-й день					
Опік	0,290±0,013	0,380±0,018	116,0±5,4	1,41±0,08*	256±11
Опік+триметазидин	0,220±0,011*	0,270±0,012*	73,0±4,3*	1,00±0,05	291±11
Опік+мексидол	0,250±0,011*	0,330±0,011*	97,0±5,3	1,16±0,05*	274±12
28-й день					
Опік	0,220±0,012	0,290±0,017	70,0±4,4	1,07±0,05*	301±13
Опік+триметазидин	0,190±0,012*	0,230±0,011*	48,0±4,1*	0,89±0,06	320±14
Опік+мексидол	0,200±0,011	0,250±0,011*	55,0±3,9	0,97±0,06	316±10

Примітка. * – $p < 0,05$ порівняно з групою щурів з опіками, які не отримували антиоксиданти.

Таблиця 2 – Вплив опіку шкіри (на 3-тю добу) та антиоксидних препаратів на солюбілізацію компонентів мікосомальних мембран під впливом дезоксихолату натрію та трипсину ($M \pm m$)

Компонент мембран	Групи тварин	% солюбілізованого компонента		
		Дезоксихолат	Трипсин	Дезоксихолат+трипсин
Білки	Контроль	6,50±0,87	36,80±0,93	60,50±0,71
	Опік	19,40±1,45*	62,20±1,12*	89,20±0,93*
	Опік+триметазидин	10,40±1,29*	44,80±1,10*	69,70±1,05*
	Опік+мексидол	14,80±1,19*	51,50±1,62*	76,90±0,99*
Фосфоліпіди	Контроль	3,40±0,59	6,90±0,46	12,50±0,69
	Опік	13,50±1,40*	21,30±1,31*	32,20±1,06*
	Опік+триметазидин	6,20±0,33*	11,00±0,58*	17,50±0,90*
	Опік+мексидол	9,20±0,88*	16,10±1,24*	23,70±1,19*

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

Таблиця 3 – Активність нейтрофільної мієлопероксидази в печінці та кишечнику щурів у різні строки після опікового ураження шкіри площею 20 % на фоні введення триметазидину та мексидолу ($M \pm m$, $n=8-10$)

Групи тварин	Активність на 3 день після опіку, мкмоль/хв/мг білка			
	Контроль	Опік	Опік+триметазидин	Опік+мексидол
Печінка	0,56±0,05	2,21±0,15*	1,12±0,08*#	1,45±0,09*#
Тонка кишка	2,31±0,15	7,87±0,55*	4,09±0,29*#	5,00±0,22*#

Примітка: * – $p < 0,05$ порівняно з контролем; # – $p < 0,05$ порівняно з групою щурів з опіками.

ника в його стінку та внутрішнє середовище [8, 10]. Транслокацію мікроорганізмів можна оцінити за ступенем інфільтрації уражених тканин нейтрофілами, а останні, у свою чергу, можна виявити за активністю специфічного маркера – мієлопероксидази.

Досліди свідчать про те що на 3-й день з моменту нанесення опіку активність мієлопероксидази в печінці щурів зростала в 4 рази (до $2,21 \pm 0,15$) проти ($0,56 \pm 0,05$) мкмоль/хв/мг білка в контролі, $p < 0,05$), на 7-й день – у 4,4 рази (до $2,44 \pm 0,13$) мкмоль/хв/мг білка, $p < 0,05$), на 14-й день – у 2,8 рази (до $1,58 \pm 0,09$) мкмоль/хв/мг білка).

У кишечнику відбувалися аналогічні зміни. Так, на 3-й день активність ферменту перевищувала контроль у 3,4 рази (з $2,31 \pm 0,15$) в контролі до ($7,87 \pm 0,55$) мкмоль/хв/мг білка, $p < 0,05$), на 7-й день – у 3,8 рази ($8,73 \pm 0,47$) мкмоль/хв/мг білка), на 14-й день – у 2,6 рази ($5,93 \pm 0,96$) мкмоль/хв/мг білка). На 28-й день активність мієлопероксидази достовірно не відрізнялася від конт-ролю.

Застосування антиоксидантів значно посилювало опірність кишечника обпечених щурів до транслокації мікроорганізмів (табл. 3). У щурів, які отримували триметазидин, активність мієлопероксидази в печінці й кишечнику була меншою, ніж у нелікованих тварин, майже вдвічі, а у тварин, які одержували мексидол, – нижчою на 34 та 36 %.

Таким чином, наші дослідження підтверджують, що вже на ранніх етапах опікової хвороби існує необхідність у призначенні антиок-

сидних та мембраностабілізуювальних засобів, оскільки розвиток інтоксикаційного синдрому ініціює окиснювальну деструкцію білків та ліпідів, особливо мембранного апарату печінки та кишечника. Синтетичні антиоксиданти – мексидол та триметазидин – ефективно запобігають розвитку оксидативного та нітрозативного стресів, причому протекторна потужність останнього більша. Особливістю антиоксидантного ефекту триметазидину є його здатність суттєво гальмувати утворення метаболітів оксиду азоту у тварин з опіками, а також стабілізувати білковий і фосфоліпідний компоненти клітинних мембран, причому останній – більш виражено.

Впровадження триметазидину або мексидолу в практику лікування опікової хвороби дозволить істотно підвищити опірність організму до несприятливих чинників, зокрема ендогенної інтоксикації, а можливо, і безпеку фармакотерапії. Однак зазначене потребує подальшого вивчення в клінічних умовах і є перспективним напрямком інших наукових досліджень.

ВИСНОВКИ. 1. Перебіг опікової травми вже з перших днів супроводжується розвитком ендогенної інтоксикації, оксидативного та нітрозативного стресів з максимальними проявами в перший тиждень і поступовою нормалізацією протягом місяця.

2. Введення мексидолу та триметазидину прискорює нормалізацію досліджених показників, а за величиною протекторної дії триметазидин переважає мексидол.

ЛІТЕРАТУРА

1. Габриэлян Н.И., Левицкий Э.Р., Дмитриев А.А. Скрининг-метод определения средних молекул в биологических жидкостях // Метод. рекомендації. – М., 1985. – 240 с.
2. Коренман И.М. Методы определения органических соединений. – М.: Химия, 1975. – 360 с.
3. Пентюк А.А., Гуцол В.И., Яковлева О.А., Луцук Н.Б. Определение фосфолипидов в биологическом материале по образованию гидрофобного комплекса с ферроцианидом аммония // Лаб. Дело. – 1987. – № 6. – С. 21-24.
4. Horton J.W. Free radicals and lipid peroxidation mediated injury in burn trauma: the role of antioxidant therapy // Toxicology. – 2003. – **15**, № 1-2. – P. 75-88.
5. Kamath S.A., Kummerow F.A., Harayan K.A. A simple procedure for the isolation of rat liver microsomes // FEBS Lett. – 1971. – **17**, № 1. – P. 90-92.
6. Levine R.L., Williams J.A., Stadtman E.R. et al. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins // Methods Enzymol. – 1994. – № 233. – P. 346-357.
7. Nemzek J.A., Call D.R., Ebong S.J. Immunopathology of a twohit murine model of acid aspiration lung injury // Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol. – 2000. – № 278. – P. 512-520.
8. Ramzy P.I., Wolf S.E., Irtun O. Gut epithelial apoptosis after severe burn: effects of gut hypoperfusion // J. Am. Coll. Surg. – 2000. – **190**, № 3. – P. 281-287.
9. Suzuki H., DeLano F.A., Parks D.A. Xanthine oxidase activity associated with arterial blood pressure in spontaneously hypertensive rats // Proc. Nat. Acad. Sci. U S A. – 1998. – **14**, № 95 (8). – P. 4754-4759.
10. Wen-Hui Fang, Yong-Ming Yao, Zhi-Guo Shi. The mRNA expression patterns of tumor necrosis factor and TNFR-I in some vital organs after thermal injury // World J. Gastroenterol. – 2003. – № 9. – P. 57-62.

ПОКАЗАТЕЛИ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ, ОКСИДАТИВНОГО И НИТРОЗАТИВНОГО СТРЕССОВ ПРИ ОЖОГАХ КОЖИ У КРЫС В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ МЕКСИДОЛА И ТРИМЕТАЗИДИНА

Е.Ю. Дмитриева

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЦИНСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. Н.І. ПІРОГОВА

Резюме

В исследованиях на 48 крысах показано, что ожоговая травма кожи площадью 20 % уже с первых суток вызывает увеличение в сыворотке крови содержания молекул средней массы, карбонильных групп, нитратов и нитритов, повышение активности ксантиноксидазы в печени и снижение уровня фосфолипидов в микросомальных мембранах. Уменьшается стойкость микросомальных мембран к воздействию дезоксихолата и трипсина и возрастает активность нейтрофильной миелопероксидазы в стенке кишечника и печени, что свидетельствует о транслокации микроорганизмов из кишечника. Эти изменения максимально проявляются на протяжении первой недели ожоговой болезни, постепенная нормализация происходит в течение месяца. Мексидол и, особенно, триметазидин значительно ускоряют выздоровление обожженных животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ожог, интоксикация, оксидативный и нитрозативный стрессы, триметазидин, мексидол.

INDICES OF ENDOGENIC INTOXICATION, OXIDATIVE AND NITROZATIVE STRESS AT SKIN BURNS IN RATS IN CONDITIONS OF MEXIDOL AND TRIMETAZIDINE APPLICATION

K.Y. Dmytriyeva

VINNYTSIA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY M.I. PYROHOV

Summary

Researches on 48 rats have shown, that the burn injury of a skin by square 20 % since the first day causes maximum increase of levels of average mass molecules, carbonyl groups, sodium nitrates and nitrites in blood serum, growth of xantineoxidase activity of liver and lowering of phospholipid contents in microsomal membranes. The stability of microsomal membranes to the effects of desoxycholate and trypsin reduces and the activity of neutrophilic myeloperoxidase in intestine wall and liver raises, that testifies to microorganisms translocation from intestine. The maximum manifestations of these changes are registered during the first week of a burn disease and the partial normalization occurs during one month. Mexidol, and especially trimetazidine, considerably accelerate the recovery of burnt animals.

KEY WORDS: burn, intoxication, oxidative and nitrozative stress trimetazidine, mexidol.

Отримано 03.06.2004 р.

Адреса для листування: К.Ю. Дмитрієва, вул. Грушевського, 21, кв. 15, Вінниця, 21050, Україна.

СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ТИПУ КРІОГЛОБУЛІНЕМІЇ

І.Я. Господарський

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Вивчено фізико-хімічні властивості кріоглобулінів різних типів. На підставі встановлених відмінностей щодо температурної лабільності кріопреципітатів запропоновано спосіб диференційної діагностики різних типів кріоглобулінемії.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кріоглобуліни, кріопреципітати.

ВСТУП. Термін "кріоглобуліни" (КГ) використовують для визначення термолабільних імуноглобулінів, які стають нерозчинними при зниженні температури менше за 37 °С. Кріоглобулінемія (КГЕ) – патологічний синдром, зумовлений наявністю в організмі КГ, що є важливим і поки що невирішеним питанням клінічної імунології та загалом медицини. Термолабільні білки відіграють важливу роль у патогенезі багатьох хвороб – від патології шкіри і судин до тяжких уражень печінки і нирок [1, 5]. На сьогодні змішану (поліклональну) КГЕ тісно пов'язують із персистенцією в організмі вірусу гепатиту С. Так, за результатами багатьох досліджень [3, 5, 6], у хворих зі змішаною КГЕ виявляють маркери цього збудника у 70 % випадків.

Дуже важливим аспектом, який відіграє вирішальну роль у визначенні діагностичного і патогенетичного значення КГ в організмі, є їх тип. Так, за складом КГ 1-го типу є моноклоновими імуноглобулінами, які найчастіше виявляють при парапротеїнеміях, деяких злоякісних пухлинах, КГ 2-го типу – комплексом моно- (нерідко – з властивістю ревматоїдного фактора) і поліклонового компонентів. Основними причинами їх розвитку вважають гострі й хронічні вірусні та протозойні захворювання. КГ 3-го типу є поліклоновими, їх виявляють при вірусних (найчастіше – при хронічному гепатиті С) і автоімунних хворобах.

Враховуючи виняткову рідкісність КГЕ 1-го типу, основну складність щодо диференціювання становлять варіанти 2-го і 3-го типів [5]. Обидва типи дуже часто виявляють, наприклад, при хронічному гепатиті С. Проте при 2-му типі КГЕ частіше мають місце ураження периферичних судин (синдром Рейно, судинна пурпура, сітчасте ліведо, артралгії/артрити тощо), рід-

ше – ураження нирок з нефротичним синдромом. При 3-му типі переважно уражаються нирки (нефритичний синдром), нерідко формуються автоімунні прояви та ускладнення (автоімунний тиреоїдит, колагенози) [3].

Загальноприйнятий метод імуноелектрофорезу, який використовують для диференціювання основних типів КГЕ, досить дорогий і складний. На сьогодні він не доступний для більшості лабораторій, за винятком спеціалізованих імунологічних, оснащених відповідним обладнанням.

Разом із тим, на сьогодні відомі специфічні фізико-хімічні властивості КГ різних типів, які дають можливість розрізнити їх між собою. Так, КГ 1-го типу (моноклонові) мають здатність повністю розчинятися (ресуспендувати) при повторному нагріванні сироватки крові до 37 °С, причому ця здатність зберігається навіть у разі повторних циклів "охолодження-нагрівання". При КГЕ 2-го і 3-го типів лише частина кріопреципітатів ресуспендує під час повторного нагрівання. Враховуючи ці фактори, ми вирішили провести вивчення оптичної щільності сироваток крові пацієнтів з уже відомим типом КГЕ при повторних циклах "охолодження-нагрівання".

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для встановлення вмісту КГ використовували методику [4], принцип якої полягає у вираховуванні оптичних щільностей розчину сироватки крові у вероналмединаловому буфері (рН=8,6) при 37 °С (D₁) та після інкубації сироватки при 4 °С (D₂). Після ресуспендування кріопреципітату при 37 °С (D₃) її знову охолоджували до 4 °С (D₄). Аналогічний цикл повторювали ще раз (D₅ і D₆ відповідно).

За описаним принципом проаналізували показники 25 сироваток крові пацієнтів з

кріопатією: за допомогою імуноелектрофорезу встановили, що у 5 сироватках були наявні КГ 1-го типу, в 10 – 2-го, ще в 10 – 3-го. Кожну сироватку досліджували протягом трьох послідовних циклів "охолодження-нагрівання".

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При КГЕ 1-го типу спостерігали повністю повторювані величини оптичної густини сироваток (табл. 1).

Загалом показники оптичної густини сироваток суттєво не відрізнялися за циклами ні при 37 °С, ні при 4 °С ($p > 0,05$ порівняно з 1-м циклом в усіх випадках при аналогічній температурі). Це означає, що повторні цикли "охолодження-нагрівання" не зменшують розчинності КГ 1-го типу.

До того ж, різниця між оптичними густинами досліджуваних сироваток не перевищувала 10 % від показника у 1-му циклі як при 37 °С, так і при 4 °С.

При КГЕ 2-го типу повторні цикли "охолодження-нагрівання" зумовлювали більш суттєві зміни оптичних густин у кожному циклі. Але достовірна різниця спостерігалася лише в разі охолодження сироваток крові до 4 °С (табл. 2).

Отже, за кріопатії 2-го типу частина осаджених при 4 °С КГ не поверталася до розчиненого стану під час нагрівання. За рахунок цього при кожному наступному охолодженні оптична густина наростала все менше. У 3-му циклі температура більшості сироваток крові достовірно не відрізнялася при 37 і 4 °С. Це означає,

що переважна частина термолабільних імуноглобулінів 2-го типу через 3-4 цикли "охолодження-нагрівання" переходила у стабільно нерозчинний стан, на відміну від КГ 1-го типу.

Різниця між оптичними густинами досліджуваних сироваток крові не перевищувала 10 % від показника у 1-му циклі при 37 °С, але була значно більшою за цей показник при 4 °С.

При дослідженні сироваток крові з КГ 3-го типу циклічності, повторюваності процесу преципітації і розчинення практично не спостерігалось (табл. 3).

Отримані нами показники свідчать про значно більшу термолабільність як самих КГ 3-го типу (порівняно з 1-м і 2-м), так і утворених ними кріопреципітатів. Очевидно, це пояснюється наявністю лише поліклональних імуноглобулінів у їх складі при відсутності моноклональних компонентів.

Різниця між показниками оптичної густини досліджуваних сироваток крові значно перевищувала 10 % від показника у 1-му циклі як при 37 °С, так і при 4 °С.

Отримані нами дані перевершують з результатами, одержаними іншими дослідниками [2], і дають можливість з великою точністю і значно меншими затратами диференціювати тип КГ. Для цього достатньо провести лише 2 послідовних цикли "охолодження-нагрівання" сироватки крові й порівняти величини її оптичної густини при різних температурах (табл. 4).

Таблиця 1 – Показники оптичної густини сироватки крові пацієнтів з КГЕ 1-го типу при повторному охолодженні й нагріванні

Цикли	Оптична густина					
	37 °С	Р (з 1-м циклом)	Різниця з 1-м циклом	4 °С	Р (з 1-м циклом)	Різниця з 1-м циклом
1-й	0,35±0,04	–	–	0,65±0,14	–	–
2-й	0,38±0,06	>0,05	8,6 %	0,71±0,11	>0,05	9,2 %
3-й	0,37±0,05	>0,05	5,7 %	0,66±0,08	>0,05	1,5 %

Таблиця 2 – Показники оптичної густини сироватки крові пацієнтів з КГЕ 2-го типу при повторному охолодженні й нагріванні

Цикли	Оптична густина					
	37 °С	Р (з 1-м циклом)	Різниця з 1-м циклом	4 °С	Р (з 1-м циклом)	Різниця з 1-м циклом
1-й	0,48±0,04	–	–	0,95±0,13	–	–
2-й	0,51±0,06	>0,05	6,3 %	0,65±0,14	>0,05	31,2 %
3-й	0,52±0,05	>0,05	8,3 %	0,56±0,11	<0,05	41,1 %

Таблиця 3 – Показники оптичної густини сироватки крові пацієнтів з КГЕ 3-го типу при повторному охолодженні й нагріванні

Цикли	Оптична густина					
	37 °С	Р (з 1-м циклом)	Різниця з 1-м циклом	4 °С	Р (з 1-м циклом)	Різниця з 1-м циклом
1-й	0,46±0,07	–	–	0,88±0,10	–	–
2-й	0,32±0,06	>0,05	26,1 %	0,40±0,12	<0,05	54,5 %
3-й	0,21±0,04	<0,05	54,3 %	0,24±0,07	<0,05	72,7 %

Таблиця 4 – Критерії визначення типу КГ за показниками оптичної густини сироватки крові

Різниця між показниками оптичної густини у 1-му і 2-му циклах "охолодження-нагрівання"		Тип КГ
4 °С	37 °С	
<10 %	<10 %	1-й
>10 %	<10 %	2-й
>10 %	>10 %	3-й

ВИСНОВКИ. КГ різних типів мають не лише різне діагностичне і прогностичне значення при патології, але і різну термолабільність.

1. КГ 1-го типу повністю повертаються до розчиненого стану при повторному нагріванні сироватки крові до 37 °С.

2. КГ 2-го і 3-го типів залишаються частково нерозчинними при підвищенні температури сироватки крові. Окрім того, при 3-му типі КГЕ сам криопреципітат є також термолабільним.

3. Виявлені особливості дають можливість значно спростити і здешевити диференційну діагностику типів КГЕ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Константинова Н.А. Криоглобулины и патология. – М.: Медицина, 1999. – 176 с.
2. Константинова Н.А., Кирсанов А.Ю. Оценка криоглобулинов в сыворотке крови с учетом циркулирующих иммунных комплексов // Лаб. дело. – 1989. – **11**. – р. 62-65.
3. Almirall J., Amengual M.J., Lopez T. Afectacion renal en la crioglobulinemia mixta tipo II // Nefrologia. – 2002. – **22**, № 6. – P. 531-539.
4. Alpa M., Ferrero B., Cavallo R. Gli anticorpi anti-GM1 ed anti-solfatidi nelle Vasculiti sistemiche pri-

mitive, nel Lupus eritematoso sistemico e nella Crioglobulinemia mista: dosaggio sierico e correlazioni clinico-elettromiografiche // G. Ital. Nefrol. – 2002. – **19**, № 6. – P. 617-621.

5. Filippini D., Colombo F., Jann S. Manifestazioni neurologiche centrali in corso di crioglobulinemia HCV correlata: revisione della letteratura e caso clinico // Reumatismo. – 2002. – **54**, № 2. – P. 150-155.

6. Ghinoi A., Mascia M.T., Puccini R. Manifestazioni autoimmuni e linfoproliferative HCV-correlate: l'esempio della crioglobulinemia mista // G. Ital. Nefrol. – 2004. – **21**, № 3. – P. 225-237.

СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ТИПА КРИОГЛОБУЛІНЕМІИ

И.Я. Господарский

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Изучены физико-химические свойства криоглобулинов разных типов. На основании определенных отличий по температурной лабильности криопреципитатов предложен способ дифференцированной диагностики разных типов криоглобулинов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: криоглобулины, криопреципитаты.

METHOD OF DIAGNOSTICS OF CRYOGLOBULINAEMIA TYPE

I.Ya. Hospodarsky

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

Physical and chemical peculiarities of different types of cryoglobulins were studied. On the basis of the established features concerning temperature lability of cryoprecipitates, a new method of differential diagnostics of different types of cryoglobulins is proposed.

KEY WORDS: cryoglobulins, cryoprecipitates.

Отримано 28.09.2004 р.

Адреса для листування: І.Я. Господарський, Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

ОЦІНКА СТУПЕНЯ ВАЖКОСТІ ПАТОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ У ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ

О.М. Гиріна, М.Р. Лебединська, Т.С. Брюзгіна
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ

Наведено результати газохроматографічного аналізу жирнокислотного складу ліпідів плазми та еритроцитів крові хворих на ішемічну хворобу серця. Отримані дані можуть бути використані при оцінці ступеня важкості патологічного процесу в клініці для розробки терапевтичних підходів з метою підвищення ефективності лікування.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ішемічна хвороба серця, плазма, еритроцити, жирні кислоти, перекисне окиснення ліпідів.

ВСТУП. У структурі захворювань серцево-судинної системи важливе місце займає ішемічна хвороба серця (ІХС) [1,8]. Порушення ліпідного обміну відіграють істотну роль у патогенезі ІХС. Їх характер багато в чому залежить від інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), стану клітинних мембран і особливостей синтезу ейкозаноїдів [3, 10]. Сполучною ланкою при цьому виступають поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК), які є структурними компонентами біологічних мембран, субстратами ПОЛ і попередниками ейкозаноїдів [2, 9]. Численні дослідження [5, 7] свідчать про суттєві зміни жирнокислотного складу ліпідів як сироватки крові, так і еритроцитів при ІХС. З літератури відомо, що при патологічних процесах змінюється ступінь насиченості жирних кислот (ЖК) ліпідів, тому істотне значення для забезпечення функціонально активного стану клітин має співвідношення насичених і ненасичених ЖК у ліпідах мембран [4].

Оскільки вищі жирні кислоти, є структурними компонентами і одночасно, основними субстратами процесу вільнорадикального окиснення, то якісні й кількісні зміни їх можуть бути інформативним тестом у клінічній і лабораторній діагностиці.

Метою досліджень було оцінити ступінь важкості патологічного процесу у хворих на ІХС методом газорідної хроматографії.

© О.М. Гиріна – д.мед.н., проф., М.Р. Лебединська, Т.С. Брюзгіна – к.тех.н., 2004.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 60 хворих віком від 46 до 66 років (у середньому $58,8 \pm 6,6$) роки) з верифікованою ІХС, стабільною стенокардією напруження. Діагноз встановлювали на основі анамнезу, даних фізикального обстеження, лабораторних та інструментальних (ЕКГ, ВЕМ) методів згідно з рекомендаціями експертної групи ВОЗ-МТГ (1999) і Українського товариства кардіологів (2002). За функціональним класом (ФК) стабільної стенокардії напруження хворих розподілили на 2 групи: 1-ша – хворих 30 I-II ФК та 2-га 30 хворих III-IV ФК. Контрольну групу склали 24 практично здорові особи відповідного віку.

Підготовку біологічного матеріалу та газохроматографічний аналіз ліпідів плазми й еритроцитів крові проводили за методикою [6]. У спектрі ЖК ліпідів плазми та еритроцитів крові було ідентифіковано 8 найбільш інформативних кислот: міристинову ($C_{14:0}$), пальмітинову ($C_{16:0}$), маргарінову ($C_{17:0}$), стеаринову ($C_{18:0}$), олеїнову ($C_{18:1}$), лінолеву ($C_{18:2}$), ейкозотрієнову ($C_{20:3}$), арахідонову ($C_{20:4}$). Піки ЖК ідентифікували шляхом порівнювання з часом утримання стандартів ЖК. Кількісну оцінку ЖК ліпідів плазми та еритроцитів крові проводили методом нормування площин метильованих похідних ЖК, їх вміст визначили у відсотках. Обчислювали суму насичених ЖК (НЖК), ненасичених ЖК (ННЖК) та ПНЖК. З метою обґрунтованого підходу до терапевтичного впливу у хворих на ІХС оцінювали ступінь важкості патологічного процесу за співвідношенням арахідонової та олеїнової

кислот з розрахунком коефіцієнта важкості патологічного процесу ($k = C_{20:4}/C_{18:1}$).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою комп'ютерної статистичної програми SPSS for Windows 10.0.5. Визначали достовірність різниці між середніми значеннями двох вибірових сукупностей. Відмінності між показниками, які порівнювали, вважали достовірними, якщо значення довірчої імовірності було більшим або дорівнювало 95 % (рівень значущості – $p < 0,05$). Рівень значущості позначали як p_k – порівнювання з групою контролю.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати газохроматографічного аналізу ліпідних показників плазми та еритроцитів крові при ІХС наведено у таблиці 1.

При порівнюванні жирнокислотного складу ліпідів обох груп хворих з показниками контролю було встановлено достовірні відмінності між рівнями пальмітинової ЖК, тенденцію до зменшення вмісту стеаринової і лінолевої ЖК, вірогідне зниження вмісту олеїнової ЖК спостерігалось на тлі достовірно підвищеного рівня арахідонової ЖК. Такий стан жирнокислотного складу ліпідів плазми крові хворих на ІХС може вказувати на активацію процесу ліпідної пероксидації, що викликає порушення метаболізму вищих ЖК плазми крові. Основна відмінність між групами хворих полягала в тому, що у пацієнтів 1-ї групи сума НЖК була вищою

50 %, а у 2-й – нижчою 50 %, що додатково свідчить про більш важкий перебіг ІХС у хворих 2-ї групи.

Відмінністю між обома групами було співвідношення насичених і ненасичених ЖК. Так, у 1-й групі хворих при тенденції до збільшення насиченості ліпідного комплексу плазми крові рівень ПНЖК достовірно не відрізнявся від показників контролю. Однак мало місце зниження рівня лінолевої ЖК на тлі підвищення вмісту арахідонової більше ніж у 2 рази. Така зміна жирнокислотного складу ліпідів плазми крові при ІХС у хворих 1-ї групи може бути реакцією адаптаційно-компенсаторного механізму в результаті активації процесів ліпідної пероксидації.

Для хворих 2-ї групи була характерна достовірно підвищена ненасиченість ліпідного комплексу плазми крові за рахунок вірогідно зниженого вмісту пальмітинової ЖК, що може свідчити про деструкцію лецитинової фракції фосфоліпідів крові, зумовлену порушенням ліпідного обміну в печінці. Рівень ПНЖК збільшився внаслідок достовірного підвищення вмісту арахідонової ЖК майже в 3 рази на тлі вірогідно зменшеного вмісту олеїнової ЖК і тенденції до зниження рівня есенціальної лінолевої ЖК. Така зміна жирнокислотного складу ліпідів плазми крові хворих на ІХС у 2-й групі може свідчити про порушення метаболізму есенціальних ЖК на етапі утворення ейкозаноїдів у результаті активації процесу ліпідної

Таблиця 1 – Жирнокислотний склад ліпідів плазми й еритроцитів крові (у %) у хворих на ІХС

Назва ЖК	Плазма			Еритроцити		
	Контроль	1-ша група	2-га група	контроль	1-ша група	2-га група
C _{14:0}	-	11,0±1,0	9,2±0,8	сліди	9,1±0,4	4,9±0,5
C _{16:0}	37,1±1,6	32,0±2,5	28,4±2,1 $p_k < 0,05$	33,6±0,8	33,6±2,5	30,7±2,0 $p_k < 0,05$
C _{17:0}	-	-	-	сліди	2,0±0,2	2,3±0,3
C _{18:0}	13,4±0,7	10,8±0,7	10,2±1,0	17,6±0,6	10,5±0,5 $p_k < 0,05$	10,6±0,7 $p_k < 0,05$
C _{18:1}	16,3±0,5	13,0±0,5	11,2±0,8 $p_k < 0,05$	20,5±1,9	13,1±0,7 $p_k < 0,05$	12,8±0,9 $p_k < 0,05$
C _{18:2}	29,1±1,5	23,1±1,3 $p_k < 0,05$	27,4±2,0	14,5±1,1	13,8±1,3	15,9±1,3
C _{20:3}	сліди	0,7±0,1	0,80±0,05	сліди	0,9±0,1	0,8±0,1
C _{20:4}	3,9±0,4	9,4±1,0 $p_k < 0,05$	12,8±1,0 $p_k < 0,05$	13,9±0,7	17,0±0,8 $p_k < 0,05$	22,0±1,0 $p_k < 0,05$
Сума НЖК	50,5±1,6	53,8±1,5 $p_k < 0,05$	47,8±1,8 $p_k < 0,05$	51,2±1,4	55,2±1,5 $p_k < 0,05$	48,5±1,8 $p_k < 0,05$
Сума ННЖК	49,5±1,6	46,2±1,5 $p_k < 0,05$	52,2±1,8 $p_k < 0,05$	48,8±1,4	44,8±1,5 $p_k < 0,05$	51,5±1,8 $p_k < 0,05$
Сума ПНЖК	33,3±1,5	33,2±1,6	41,0±1,6 $p_k < 0,05$	28,4±1,0	31,7±1,6 $p_k < 0,05$	38,7±1,6 $p_k < 0,05$
k	0,2=0,4	0,5=0,7	0,8=1,1	0,9=1,0	1,2=1,4	1,5=1,7

пероксидації та узгоджується з літературними даними [1].

При порівнюванні ліпідних показників еритроцитів крові хворих на ІХС обох груп з даними контролю було відзначено загальні характерні відмінності вмісту стеаринової, олеїнової та арахідонової ЖК. Така зміна жирнокислотного складу ліпідів еритроцитів крові може вказувати на активацію процесу ліпідної пероксидації, що призводить до порушення метаболізму вищих ЖК.

При виявленні розходжень у зміні ліпідних показників хворих 1-ї та 2-ї груп характерною була відмінність у співвідношенні насичених і ненасичених ЖК. Так, у 1-й групі зміна жирнокислотного складу ліпідів еритроцитів пов'язана з достовірним підвищенням насиченості ліпідного комплексу за рахунок достовірного зниження рівня стеаринової та олеїнової ЖК на тлі незмінного вмісту лінолевої ЖК і вірогідно підвищеного рівня арахідонової ЖК. Така зміна ненасиченості ЖК при тенденції до зростання вмісту ПНЖК може бути реакцією адаптаційно-компенсаторного механізму в результаті активації процесів ПОЛ.

За формулою, наведеною вище, ми розраховували коефіцієнт важкості патологічного процесу у хворих на ІХС. Встановлено значення коефіцієнта k для обох груп хворих як у плазмі, так і в еритроцитах (табл 1), спостерігалось підвищення коефіцієнта k при більш важкому перебізі захворювання (у 2-й групі хворих). Отже, розрахунок коефіцієнта k може бути додатковим критерієм оцінки ступеня важкості патологічного процесу у хворих на ІХС.

Таким чином, проведені дослідження дозволяють зробити висновок про те, що оцінка ступеня важкості патологічного процесу за показниками ліпідного метаболізму може бути критерієм для обґрунтованого підходу до терапевтичного впливу при ІХС.

ВИСНОВКИ. 1. Розрахунок коефіцієнта k може бути додатковим критерієм оцінки ступеня важкості патологічного процесу у хворих на ІХС.

2. Оцінка ступеня важкості патологічного процесу за показниками ліпідного метаболізму може бути критерієм для обґрунтованого підходу до терапевтичного впливу при ІХС.

ЛІТЕРАТУРА

1. Амосова Е.Н., Афоїна Г.Б., Русин Е.В., Павлович А.В. Роль свободных радикалов в патогенезе ишемического повреждения миокарда // Укр. кард. журн. – 1999. – 2, № 2. – С. 121-126.
2. Афоїна Г.Б., Куюн Л.И. Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ. – К., 2000. – 287 с.
3. Барабой В.А., Сутовой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. – К: Чернобыльинтеринформ, 1997. – 202 с.
4. Бурлакова Е.Б., Крамаков С.А., Храпова Н.Г. Роль токоферола в перекисном окислении липидов биомембран // Биологические мембраны. – 1998. – № 2. – С. 137-167.
5. Гиріна О.М., Пилипчак О.М., Брюзгіна Т.С. Варіабельність жирнокислотних спектрів ліпопротеїдів як аварійна адаптація у хворих з постінфарктним кардіосклерозом // Доповіді НАН України. – 2002. – № 5. – С. 197-200.
6. Гичка С.Г., Брюзгіна Т.С., Рева С.Н., Вреліт Г.М. Газохроматографический метод определения липидных показателей крови при ишемической болезни сердца // Укр. кард. журн. – 1998. – № 7-8. – С. 50-52.
7. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушение. – С.Пб., 1999. – 505 с.
8. Метелица В.И. Новое в лечении хронической ишемической болезни сердца. – М., 1999. – 209 с.
9. Сыркин А.Л., Азизова О.А., Дриницина С.В. И др. Связь между тяжестью стенокардии, ее стабильностью и уровнем окислительной модификации липидов у больных ишемической болезнью сердца // Тер. архив. – 2001. – 73, № 9. – С. 38-42.
10. Chen W., Glasgow W., Murphy E., Steenbergen C. Lipoxygenase metabolism of arachidonic acid in ischemic preconditioning and PKC-induced protection in heart // Amer. J. Physiol. – 1999. – 276, № 6, Pt. 2. – P. H2094-H2101.

ОЦЕНКА СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

О.М. Гирина, М.Р. Лебединская, Т.С. Брюзгина
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА, КИЕВ

Резюме

Приведены результаты газохроматографического анализа жирнокислотного состава липидов плазмы и эритроцитов крови у больных с ишемической болезнью сердца. Полученные данные могут быть использованы при оценке степени тяжести патологического процесса в клинике для разработки терапевтических подходов с целью повышения эффективности лечения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ишемическая болезнь сердца, плазма, эритроциты, жирные кислоты, перекисное окисление липидов.

EVALUATION OF THE DEGREE OF PATHOLOGICAL PROCESS SEVERITY IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE

O.M. Hyrina, M.R. Lebedynska, T.S. Briuzgina
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLETS, KYIV

Summary

The article contains the results of gas chromatographic analysis of fatty-acid composition of plasma lipids and erythrocytes of blood at patients with ischemic heart disease. The received data can be used at evaluation of a degree of pathological process severity in clinic, for development of therapeutic approaches with the purpose of the rising the effect of treatment.

KEY WORDS: ischemic heart disease, plasma, erythrocytes, fatty acids, lipid peroxidation.

Отримано 17.05.2004 р.

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

Для отримання оперативної інформації звертайтеся
до нашої сторінки в Інтернеті:
www.tdmu.edu.te.ua

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ АНТИЕКСУДАТИВНОЇ ДІЇ НОВОГО ПРЕПАРАТУ "АНАЛЬБЕН" ТА НЕСТЕРОЇДНИХ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ЗАСОБІВ РІЗНИХ ПОКОЛІНЬ

О.О. Герасимова, Л.В. Яковлева, О.М. Шаповал
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ
ЦЕНТРАЛЬНА НАУКОВО-ДОСЛІДНА ЛАБОРАТОРІЯ

За результатами проведених досліджень встановлено, що в механізмі протизапальної дії анальбену-ретард та селективного інгібітора ЦОГ-2 мелоксикаму має місце інгібування медіаторів запалення гістаміну, серотоніну, кінінів та простагландинів (ПГ). Вольтарен-рапід (неселективний інгібітор ЦОГ-2) та німесулід (селективний) сильніше за новий препарат пригнічують біосинтез ПГ, що може бути причиною розвитку побічних ефектів. А специфічний інгібітор ЦОГ-2 целебрекс, на відміну від анальбену-ретард та інших досліджуваних препаратів, не впливає на вивільнення гістаміну і серотоніну та має менш тривалу анти-ексудативну дію.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: нестероїдні протизапальні засоби анальбен-ретард, вольтарен-рапід, мелоксикам, німесулід, целебрекс.

ВСТУП. Враховуючи світову тенденцію до подовження життя, кількість людей у світі, які підлягатимуть НПЗЗ-терапії, буде зростати в міру старіння популяції та природного збільшення розповсюдженості уражень опорно-рухового апарату [14, 15]. На сьогодні існує значний арсенал сучасних НПЗЗ, який нараховує близько 20 оригінальних препаратів та складається з різних поколінь НПЗЗ: неселективних та селективних інгібіторів ЦОГ-2. Але найновіші препарати, інгібітори ЦОГ-2, хоч і є на фармацевтичному ринку України, та через високу ціну не доступні для широкого кола споживачів. Тому в українській медичній практиці широко використовують традиційні НПЗЗ та обмежено – найновіші, що не забезпечує ефективного та безпечного лікування. Останнє зумовлено розвитком специфічних, пов'язаних з механізмом дії побічних ефектів при застосуванні як традиційних, так і селективних інгібіторів ЦОГ-2. Установлено, що на фоні лікування інгібіторами ЦОГ-2, і при використанні неселективних інгібіторів ЦОГ-1/ЦОГ-2, спостерігаються периферичні набряки, пов'язані з пригніченням клубочкової фільтрації та затримкою солей, симптоми диспепсії,

гепатотоксичної дії та навіть тяжких гастроентерологічних побічних ефектів. Розвиток небажаних ефектів НПЗЗ часто має дозозалежний характер. Для більшості препаратів цього класу простежується тенденція до підсилення протизапальних властивостей у разі призначення вищих доз та більшого вираження анальгетичних при призначенні низьких доз. У цілому НПЗЗ передостаннього та останнього поколінь проявляють близьку ефективність, але суттєво відрізняються за токсичністю. На даний час основну увагу приділяють створенню та використанню не стільки ефективних, скільки нешкідливих НПЗЗ.

На сьогодні вчені НФаУ створили та фармакологічно вивчили новий вітчизняний високо-ефективний НПЗЗ "анальбен", який є похідною бензойної кислоти. У ході експериментальних досліджень встановлено, що він має виражені анальгетичні, протизапальні, жарознижувальні та гепатопротекторні властивості, малотоксичний, не викликає алергічної та ульцерогенної дій [2, 4, 6, 7, 8]. За результатами двох фаз клінічних випробувань таблетки "Анальбен" по 0,001 г є ефективними та нешкідливими для комплексного лікування дистрофічних захворювань опорно-рухового апарату, реактивного поліартриту, ревматизму, обмінного артрити,

© О.О. Герасимова – к.фарм.н., Л.В. Яковлева – д.фарм.н., проф., О.М. Шаповал – к.біол.н., 2004.

коксаартрозу, хвороби Бехтерева, спондилоартрозу поперекового відділу хребта, больового синдрому, радикуліту та остеохондрозу [5]. Єдиним недоліком анальбену є те, що він швидко виводиться з організму: період його напівелімінації складає 1,45 год, відповідно до чого препарат призначають по 4-5 разів на добу [3, 5].

Зважаючи на вищевикладене, науковцями НФаУ була створена пролонгована лікарська форма "Анальбен-ретард", яка дозволить знизити кратність приймання нового препарату до 1-2 разів на добу.

Метою даної роботи є вивчення впливу на перебіг ексудативного запалення нового препарату "Анальбен-ретард" порівняно із засобами пролонгованої дії, такими, як вольтарен-рапід, який є неселективним інгібітором ЦОГ-1/ЦОГ-2 і "золотим стандартом" НПЗЗ за ефективністю та нешкідливістю [10, 14, 17, 18], мелоксикам та німесулід, що є селективними інгібіторами ЦОГ-2 [12, 15, 16], і целебрекс – специфічний інгібітор ЦОГ-2 [11, 13]. Останні три препарати є найсучаснішими з групи НПЗЗ на фармацевтичному світовому ринку.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для досягнення поставленої мети антиексудативну дію досліджуваних препаратів вивчали на моделі карагенінового набряку стопи у щурів [1].

Досліди проводили на 5 групах білих щурів масою 180-200 г (по 6 тварин у групі). Набряк викликали шляхом субплантарного введення 0,1 мл 1 % розчину карагеніну [1]. Досліджувані препарати вводили інтрагастрально за одну годину до ін'єкції карагеніну в таких дозах: анальбен-ретард – 5,0 мг/кг, вольтарен – 8,0 мг/кг, мелоксикам – 1 мг/кг, німесулід – 12 мг/кг, целебрекс – 12 мг/кг. Контрольні тварини одержували еквівалентну кількість розчинника. Про розвиток набряку судили за збільшенням об'єму стопи, який вимірювали в динаміці через 1, 2, 3, 4, 5, 6 і 24 год за

допомогою механічного онкометра за А.С. Захаревським [1]. Антиексудативну активність речовин виражали у відсотках і визначали за здатністю зменшувати набряки у дослідних тварин порівняно з контрольними. Результати досліджень наведено у таблиці 1 та на рисунку 1.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. За результатами проведених досліджень встановлено, що анальбен-ретард у дозі 5 мг/кг рівномірно пригнічує ексудативне запалення протягом 24 год. Динаміка антиексудативної активності селективного інгібітора ЦОГ-2 мелоксикаму відповідає такій анальбену-ретард (табл. 1, рис. 1). Неселективний інгібітор ЦОГ-1/ЦОГ-2 вольтарен достовірно сильніше за анальбен-ретард інгібує розвиток ексудативної запальної реакції з 2-ї до 4-ї год, а селективний інгібітор ЦОГ-2 німесулід – з 3-ї до 5-ї год (табл. 1, рис. 1). Антиексудативна дія специфічного інгібітора ЦОГ-2 починається з 2-ї год і триває до 6-ї год (табл. 1, рис. 1).

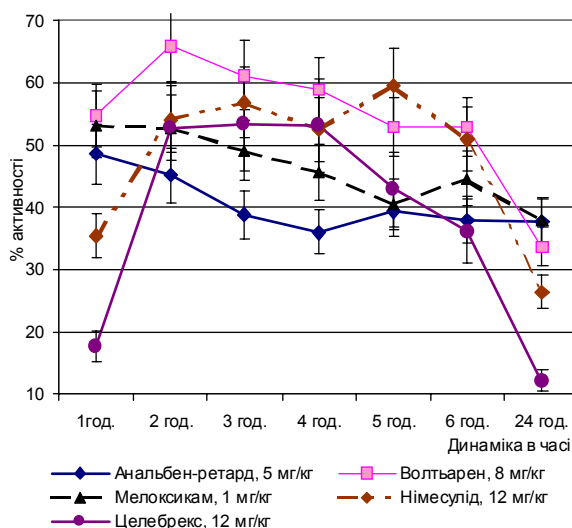


Рис. 1. Динаміка антиексудативної дії об'єктів, що вивчаються.

Таблиця 1 – Динаміка антиексудативної дії препаратів, що вивчаються

№ п/п	Препарат, доза	Антиексудативна дія, %						
		1 год.	2 год.	3 год.	4 год.	5 год.	6 год.	24 год.
1.	Анальбен-ретард, 5 мг/кг	48,55±6,32	45,14±5,09	38,79±4,61	36,01±2,61	39,28±5,68	38,05±5,57	37,65±4,02
2.	Вольтарен, 8 мг/кг	54,82±6,92	65,97±4,86*	61,21±6,90*	58,86±9,57*	52,98±10,36	53,01±11,27	33,71±11,58
3.	Мелоксикам, 1 мг/кг	53,21±9,81	52,78±9,72	49,18±7,79	45,62±9,52	40,48±9,61	44,62±10,08	37,87±10,87
4.	Німесулід, 12 мг/кг	35,47±5,40	54,17±3,23	56,83±2,60*	52,58±6,35*	59,52±7,00*	50,96±6,05	26,40±10,57
5.	Целебрекс, 12 мг/кг	17,69±6,51*	52,78±3,67	53,42±9,43	53,15±8,61	42,86±8,74	36,23±9,44	12,11±7,01*

Примітка. * – відхилення достовірно по відношенню до групи анальбену-ретард (P ≤ 0,05)

Зважаючи на дані літератури про те, що в патогенезі розвитку карагенінового набряку стопи у щурів у перші 30-90 хв беруть участь гістамін та серотонін, в інтервалі між 1,5-2,5 год – кініни, а між 2,5-5 год – ПГ [9], а також динаміку антиексудативної активності досліджуваних препаратів на цій моделі (табл. 1, рис. 1), можна вважати, що в механізмі протизапальної дії анальбену-ретард та селективного інгібітора ЦОГ-2 мелоксикаму має місце інгібування всіх зазначених біологічно активних речовин. Неселективний інгібітор ЦОГ-1/ЦОГ-2 вольтарен та селективний інгібітор ЦОГ-2 німесулід сильніше ніж новий препарат пригнічують біосинтез ПГ, що може бути причиною розвитку побічних ефектів. А специфічний інгібітор ЦОГ-2 целебрекс, на відміну від анальбену-ретард та інших досліджуваних препаратів, не впливає на вивільнення гістаміну і серотоніну та має менш тривалу антиексудативну дію.

ВИСНОВКИ. 1. Установлено, що пролонгована форма нового вітчизняного НПЗЗ – таблетки "Анальбен-ретард" – у дозі 5 мг/кг рівномірно пригнічує ексудативне запалення протягом 24 год.

2. Зважаючи на динаміку антиексудативної дії та дані літератури, можна зробити висновок про те, що одним з механізмів антиексудативної дії анальбену-ретард та селективного інгібітора ЦОГ-2 мелоксикаму є інгібування медіаторів запалення гістаміну, серотоніну, кінінів та простагландинів.

3. Препарати порівняння неселективний інгібітор ЦОГ-1/ЦОГ-2 вольтарен та селективний інгібітор ЦОГ-2 німесулід інгібують вивільнення простагландинів сильніше за анальбен-ретард, що може викликати побічну реакцію.

4. Специфічний інгібітор ЦОГ-2 целебрекс не спроможний інгібувати гістамін та серотонін і має меншу за інші досліджувані препарати тривалість антиексудативної дії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дроговоз С.М., Зупанець І.А., Мохорт М.А. Експериментальне (доклінічне) вивчення фармакологічних речовин, які пропонуються як нестероїдні протизапальні засоби. // У кн.: Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / За ред. О.В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2002. – С. 292-306.
2. Шаповал О.М. Порівняльний аналіз фармакодинаміки анальбену, анальгіну та вольтарену // Сб. "Лекарства – человеку". – Харьков, 2001. – С. 521-525.
3. Яковлева Л.В., Шаповал О.М., Серікова І.І., Безугла Н.П. Вивчення фарма-кокінетики нового ненаркотичного анальгетика анальбену // Клін. фармація. 1999. – **3**, № 1. – С. 96-98
4. Яковлева Л.В., Шаповал О.Н. Изучение влияния нового ненаркотического анальгетика анальбена на центральные механизмы боли // Фармакологічний вістник. – 1999. – № 2. – С. 39-42.
5. Яковлева Л.В., Шаповал О.М. Аналіз результатів клінічних випробувань лікарських препаратів, розроблених в НФАУ // Клін. фармація. – 2000. – **4**, № 2. – С. 41-45.
6. Яковлева Л.В., Шаповал О.Н., Зупанець І.А. Механизмы фармакологического действия ненаркотических анальгетиков и нестероидных противовоспалительных препаратов // В кн.: Современные аспекты рационального обезболивания в медицинской практике (Практическое руководство) Под ред. А.И. Трещинского, Л.В. Усенко, И.А. Зупанца. – К.: МОРИОН, 2000. – С. 6-12.
7. Яковлева Л.В., Шаповал О.М., Левітін Е.Я. Вивчення впливу нового препарату анальбену на функціональний стан шлунково-кишкового тракту // Сб. "Лекарства – человеку". – Харьков, 2001. – С. 590-593.
8. Яковлева Л.В., Шаповал О.М., Левітін Е.Я. Вивчення гепатотропної дії нового препарату "Анальбен" // ФАР. – 2001. – № 1. – С. 52-55.
9. A new writhing model of factor XII activator-induced pain for assessment of non-steroidal anti-inflammatory agents. I. Kaolin-induced writhing mice / Toshio Fuji-yoshi, Miho Kuwashima etc. // J. Pharmacobiol. – Dyn. – 1989. – № 12. – P. 132-136.
10. Catella-Lawson F. Effects of specific inhibition of cyclooxygenase-2 on sodium balance, hemodynamics, and vasoactive eicosanoids // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 1999. – **289**. – P. 735-741.
11. Emery P. Celecoxib versus diclofenac in long-term management of rheumatoid arthritis: randomised double-blind comparison // Lancet. – 1999. – **354**. – P. 2106-2111.
12. Distel M., Mueller C., Bluhmki E, Fries J. Safety of meloxicam: a global analysis of clinical trials // Br. J. Rheumatol. – 1996. – **1**, № 35. – P. 68-77.
13. Gannedahloand E.-L., Yue Q-Y. Coxibs and the reporting of adverse reactions // Medical Products

Agency. – 2000. – № 11. – P. 74-77.

14. Kolaczowska E. Cyclooxygenases. I. Role in Inflammation // Cell Biology. – 2002. – № 29. – P. 533-554.

15. Kolaczowska E. Cyclooxygenases. II. Non-steroidal Anti-Inflammatory Drugs as Their Inhibitor // Cell Biology. – 2002. – № 29. – P. 555-578.

16. Lichtenstein D.R., Wolfe M.M. COX-2-selective NSAIDs // Journal of the American Medical Association. – 2000. – № 284. – P. 1297-1299.

17. Vane J.R., Bakhle Y.S., Botting R.M. Cyclooxygenases 1 and 2 // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 1998. – **38**. – P. 97-120.

18. Warner T.D. Nonsteroid drug selectivities for cyclooxygenase-1 rather than cyclooxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: a full in vitro analysis // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1999. – **96**. – P. 7563-7568.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АНТИЭКСУДАТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ НОВОГО ПРЕПАРАТА "АНАЛЬБЕН" И НЕСТЕРОИДНЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СРЕДСТВ

О.О. Герасимова, Л.В. Яковлева, О.М. Шаповал
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ
ЦЕНТРАЛЬНАЯ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКАЯ ЛАБОРАТОРИЯ

Резюме

За результатами проведених досліджень встановлено, що в механізмі протизвопалителного дії анальбена-ретард і селективного інгібітора ЦОГ-2 мелоксикама має місце інгібування медіаторів запалення гістаміна, серотоніна, кінінів і простагландинів (ПГ). Вольтарен-рапід (неселективний інгібітор ЦОГ-2) і нимесулід (селективний) сильніше, ніж новий препарат, угнетають біосинтез ПГ, що може бути причиною розвитку побічних ефектів. А специфічний інгібітор ЦОГ-2 целебрекс, в відмінності від анальбена-ретард і інших досліджуваних препаратів, не впливає на звільнення гістаміна і серотоніна і має менше тривале антиексудативне діє.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: нестероїдні протизвопалителні засоби (НПЗЗ), анальбен-ретард, вольтарен-рапід, мелоксикам, нимесулід, целебрекс.

COMPARATIVE ANALYSIS OF ANTIEXUDATIVE ACTION OF NEW REMEDI "ANALBEN" AND NONSTEROID ANTIINFLAMMATORY DRUGS OF VARIOUS GENERATIONS

O.O. Herasymova, L.V. Yakovlyeva, O.M. Shapoval
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV
CENTRAL SCIENTIFIC-RESEARCH LABORATORY

Summary

According to the results of clinical researches it was established, that in Analben-retard and selective inhibitor COX-2 Meloxicam antiinflammatory action occurs the inhibition of inflammatory mediators histamine, serotonin, kinines and prostaglandin (PG). Nonselective inhibitors COX-1/COX-2 Voltaren-rapid and selective inhibitor COX-2 Nimesulid are stronger inhibitors of PG biosynthesis than Analben-retard. The specific inhibitor COX-2 Celebrex hasn't any action on inflammatory agents histamine and serotonin and has shorter antiexudative action than Analben-retard and other investigated drugs.

KEY WORDS: nonsteroid anti-inflammatory drugs, Analben-retard, Voltaren-rapid, meloxicam, nimesulid, celebrex.

Отримано 27.05.2004 р.

Адреса для листування: О.О. Герасимова, ЦНДЛ, НФаУ, вул. Мельникова, 12, Харків, 61002, Україна.

ВИВЧЕННЯ СПЕКТРА ВИЩИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ ЛІПІДІВ РОТОВОЇ РІДИНИ У ХВОРИХ НА ГЕНЕРАЛІЗОВАНИЙ ПАРОДОНТИТ

А.В. Юрженко

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

Наведено дані про жирнокислотний склад ліпідів ротової рідини хворих на генералізований пародонтит (ГП) початкової і I-II ступенів, які отримано методом газової хроматографії. Для хворих на ГП початкового ступеня характерне підвищення ненасиченості ліпідного комплексу ротової рідини, а у хворих на ГП I-II ступенів відмічається зростання насиченості ліпідів, що потребує відповідної корекції при комплексній терапії пацієнтів ГП з метою підвищення ефективності лікування.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: генералізований пародонтит, вищі жирні кислоти, ротова рідина.

ВСТУП. Генералізований пародонтит (ГП) займає одне з провідних місць у структурі стоматологічних захворювань. Згідно з результатами численних епідеміологічних досліджень, частота захворювань пародонта зростає, особливо в осіб молодого віку, що зумовлює необхідність пошуку інформативних, патогенетичних, безпечних і неінвазивних методів ранньої діагностики.

На даний час не викликає сумніву важлива роль порушень ліпідного обміну в етіології та патогенезі ГП [3]. Істотне значення для забезпечення функціонального стану клітин пародонта має співвідношення насичених і ненасичених вищих жирних кислот (ЖК) у біологічних мембранах. При розвитку патологічного процесу в пародонті змінюється ступінь ненасиченості ЖК за рахунок модифікації жирнокислотного спектра біомембран. Руйнування зубоясенного прикріплення і наявність пародонтальних кишень при ГП супроводжуються збільшенням вмісту ЖК внаслідок активації фосфоліпаз у тканинах пародонта і ротовій рідині [1]. Свідченням реструктуризації жирнокислотного спектру мембран може стати динаміка складу ЖК ліпідів ротової рідини у хворих на ГП.

Метою роботи було дослідити методом газової хроматографії жирнокислотний склад ліпідів ротової рідини у хворих на ГП залежно від ступеня та характеру перебігу захворювання.

© А.В. Юрженко, 2004.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Ліпідний комплекс ротової рідини вивчено у 46 хворих на ГП початкового і I-II ступенів віком 18-30 років. 1-шу групу з ГП початкового ступеня склали 27 осіб, з них 10 – із загостреним перебігом захворювання, 17 – із хронічним; 2-гу групу з ГП I-II ступенів розвитку – 19 осіб, з них 12 – із загостреним перебігом, 7 – із хронічним. Контролем були результати обстеження 15 практично здорових осіб того ж віку з клінічно здоровими тканинами пародонта. Усім обстеженим проводили комплексне вивчення стану тканин пародонта. Сформовані групи хворих були однорідними та не мали виражених загальносоматичних захворювань.

Об'єктом дослідження обрано ротову рідину як одну з альтернатив традиційним у пародонтології біологічним об'єктам – крові та тканинам пародонта. Джерелом вищих довголанцюгових ЖК у ротовій рідині є ясенна рідина і нейтрофільні лейкоцити, фосфоліпіди мембран які зазнають гідролізу під впливом лейкоцитарних мікробних фосфоліпаз. Ротову рідину збирали вранці натщесерце після полоскання ротової порожнини ізотонічним розчином.

Жирнокислотний спектр ліпідів ротової рідини визначали методом газової хроматографії, принцип якого полягає в екстракції ліпідів, гідролізі та метилюванні ліпідних компонентів і аналізі жирнокислотного складу ліпідів. Підготовку біологічного матеріалу, отриманого у хворих на ГП, та газохроматографічний аналіз проводили за відомою методикою [4]. Газохро-

матографічний аналіз спектрів ЖК ліпідів здійснювали на газовому хроматографі серії "Цвет-500" в ізометричному режимі з полум'яно-іонізаційним детектором.

У ліпідному комплексі ротової рідини було ідентифіковано сім найбільш інформативних ЖК, таких, як: С16:0 пальмітинова, С18:0 стеаринова – насичені ЖК; С18:1 олеїнова – мононенасичена ЖК, С18:2 лінолева, С18:3 ліноленова, С20:4 арахідонова, С22:4,6 докозополієнові – поліненасичені ЖК.

Піки ЖК ідентифікували шляхом порівняння з часом утримання піків стандартів ЖК. Кількісну оцінку спектра ЖК ліпідів ротової рідини проводили методом нормування площ шляхом вимірювання площин піків метильованих похідних ЖК та визначення їх складу у відсотках.

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

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати газохроматографічного аналізу жирнокислотного складу ліпідів рідини у хворих на ГП наведено в таблиці 1.

Аналіз отриманих даних показав, що суттєвою відмінністю в ліпідах ротової рідини хворих на ГП початкового ступеня, порівняно з групою здорових осіб, є зміни в рівні ПНЖК (майже на 50 %). Він достовірно зростав за рахунок збільшення частки арахідонової та докозополієнових ЖК у результаті можливої активації ендогенних фосфоліпаз при розвитку патологічного процесу [2]. На цьому фоні відзначалося зниження частки лінолевої та ліно-

ленової ЖК, які втягнені в процеси переокиснення ліпідів, оскільки подвійні зв'язки в молекулах цих кислот є безпосередньою мішенню в разі атаки окиснювальних радикалів. Продукти їх пероксидації сприяли розвитку запального процесу, тому що регулювали синтез медіаторів запалення ліпідної природи – ейкозаноїдів. Від нормального вмісту полієнових ЖК залежать плинність та рухливість біомембран, виконання ними найважливіших фізіологічних функцій.

При аналізі даних (табл. 1) звертає на себе увагу зменшення насиченості ліпідного комплексу ротової рідини у хворих на ГП початкового ступеня порівняно з контролем. Це відбувалося за рахунок стеаринової кислоти, яка утворювалась шляхом елонгації пальмітинової кислоти, тому зниження її рівня може свідчити про порушення цього процесу. Із стеаринової кислоти може синтезуватись олеїнова, яка, у свою чергу, є попередником ω-9 ПНЖК. Таким чином, зміна вмісту стеаринової кислоти є проявом залучення її до метаболізму ПНЖК, рівень яких зростав у ротовій рідині цієї групи хворих на ГП.

У хворих на ГП I-II ступенів у ротовій рідині, порівняно з контрольною групою і групою хворих на ГП початкового ступеня, встановлено достовірне зниження сумарного вмісту ННЖК і ПНЖК та виявлено достовірне збільшення насиченості ліпідного комплексу ротової рідини за рахунок пальмітинової та стеаринової ЖК. Слід зазначити, що у хворих на ГП I-II ступенів рівень пальмітинової кислоти був найвищий порівняно з усіма групами. Зниження загального рівня ПНЖК у хворих цієї групи відбувалося внаслідок зменшення частки лінолевої, ліноленої, арахідонової, докозополієнових

Таблиця 1 – Жирнокислотний склад ліпідів ротової рідини в здорових осіб і хворих на генералізований пародонтит (M±m)

Назва жирних кислот	Вищі жирні кислоти, %		
	Групи обстежених		
	Здорові, контрольна група, n=15	Хворі на генералізований пародонтит початкового ступеня, 1-ша група, n=27	Хворі на генералізований пародонтит I-II ступенів, II група, n=19
C _{16:0} пальмітинова	27,2±1,5	25,4±1,6	40,6 ± 1,8* **
C _{18:0} стеаринова	16,0±1,1	10,9±0,9*	15,2 ± 1,2**
C _{18:1} олеїнова	20,6±1,2	14,0±1,0*	14,3 ± 1,1*
C _{18:2} лінолева	20,4±1,6	16,9±1,5	13,7 ± 1,2*
C _{18:3} ліноленова	9,8±0,6	6,8±1,3*	1,2 ± 0,1**
C _{20:4} арахідонова	2,6±0,2	16,7±1,5*	9,5 0,6**
C _{22:4,6} докозополієнові	3,4±0,2	9,3±0,7*	5,5 ± 0,7**
Σ НЖК	43,2±2,4	35,3±1,8*	55,8 ± 1,5**
Σ ННЖК	56,8±1,8	64,7±2,9	44,2 ± 2,3**
Σ ПНЖК	34,2±1,6	51,7±1,4*	29,9 ± 2,1**

Примітка. * – достовірні зміни порівняно з контролем, p<0,05; ** – достовірні зміни порівняно з групою хворих на генералізований пародонтит початкового ступеня, p<0,05.

ЖК, що може свідчити про активацію процесу пероксидації ліпідів, який спричиняв дефіцит есенціальних.

ВИСНОВОК. На підставі одержаних результатів можна зробити такі висновки. Для хворих на ГП початкового ступеня характерне збільшення ненасиченості ліпідного комплексу, що зумовлено підвищенням вмісту арахідонової кислоти. Це можна розглядати як

компенсаторну реакцію організму на витрати ННЖК при активації процесів ліпопероксидації, субстратами яких є поліненасичені ЖК. Для хворих на ГП I-II ступенів характерною рисою є збільшення насиченості ліпідного комплексу ротової рідини.

Насиченість складу ЖК ліпідів ротової рідини збільшується за рахунок зростання рівня пальмітинової та стеаринової кислот і різкого зменшення суми ПНЖК.

ЛІТЕРАТУРА

1. Борисенко А.В., Герелюк В.И. Оценка роли продуктов арахидоновой кислоты при дистрофическо-воспалительном процессе в тканях пародонта // Современная стоматология. – 2000. – № 4 – С. 23-25.
2. Герелюк В.И. Вміст нейтральних ліпідів і загальних фосфоліпідів у слині при гінгівіті та пародонтиті // Лік справа. – 2000. – № 2. – С. 37-40.

3. Данилевский М.Ф., Борисенко А.В. Заболевания пародонта. – К.: Здоров'я, 2000. – 464 с.
4. Савичук О.В., Брюзгіна Т.С. Стан ліпідного метаболізму у ротовій порожнині при хронічному рецидивуючому афтозному стоматиті у дітей // Доповіді НАН України. – 2003. – № 5. – С. 183-185.

ИЗУЧЕНИЕ СПЕКТРА ВЫСШИХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ЛИПИДОВ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ У БОЛЬНЫХ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ ПАРОДОНТИТОМ

А.В. Юрженко

НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА, КИЕВ

Резюме

Приведены данные о жирнокислотном составе липидов ротовой жидкости у больных генерализованным пародонтитом (ГП) начальной и I-II степени, полученные методом газовой хроматографии. Для больных ГП начальной степени характерно повышение ненасыщенности липидного комплекса ротовой жидкости, а у больных ГП I-II степеней отмечается рост насыщенности липидов, что требует соответствующей коррекции при комплексной терапии пациентов с ГП с целью повышения эффективности лечения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: генерализованный пародонтит, высшие жирные кислоты, ротовая жидкость.

RESEARCH OF HIGHER FATTY-ACID SPECTRUM OF MOUTH LIQUID LIPIDS IN PATIENTS WITH GENERALIZED PERIODONTITIS

A.V. Yurzenko

NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLETZ, KYIV

Summary

The fatty-acid composition of mouth liquid lipids of patients with initial and I-II degree of generalized periodontitis (GP) has been studied by gas chromatography. The increasing of mouth liquid lipid complex unsaturation is typical for patients with initial degree of GP and the increasing of lipid saturation is registered for patients with I-II degree of GP. It demands the according correction under complex therapy of patients with GP for the purpose to increase the efficiency of treatment.

KEY WORDS: generalized periodontitis, higher fatty acids, mouth liquid.

Отримано 29.03.2004 р.

Адреса для листування: А.В. Юрженко, Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, бульв. Тараса Шевченка, 13, Київ, 01004, Україна.

РІВЕНЬ СТАБІЛЬНИХ МЕТАБОЛІТІВ ОКСИДУ АЗОТУ В ПЛАЗМІ КРОВІ ТА СУДИННІЙ СТІНЦІ У ЩУРІВ ПРИ СТАРІННІ

О.К. Кульчицький, Р.І. Потапенко, О.В. Ніжанковська
ІНСТИТУТ ГЕРОНТОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, КИЇВ

Виявлено закономірні зміни у зниженні продукування стабільних метаболітів оксиду азоту в плазмі крові та судинній стінці старих щурів порівнянно з дорослими тваринами. Показано вікове зниження вироблення оксиду азоту в стінці аорти за умов in vitro. Встановлено, що ці зміни пов'язані із зменшенням рівня нітрит-аніона при старінні.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: оксид азоту, аорта, NO-синтаза, нітрит-аніон, нітрат-аніон, старіння.

ВСТУП. На сьогодні є очевидним, що ендотелій судин регулює судинний тонус та місцеві процеси гемостазу, проліферації, міграції клітин крові в судинну стінку [13, 1]. Показано, що ендотеліальні клітини чутливі до дії різних факторів пошкодження – деформація зсуву, вільні радикали, запальні цитокіни, циркулюючі та місцеві медіатори, холестерин тощо. [8]. Порушення балансу між факторами, що забезпечують перебіг цих процесів призводять до розвитку ендотеліальної дисфункції. Важливо, що вона є передумовою розвитку багатьох патологічних станів [11, 3]. Відомо, що основний фактором релаксації судин – оксид азоту (NO), який синтезується і вивільнюється ендотеліоцитами [16]. Синтез NO в організмі каталізується родинами NO-синтаз, які за характером індукції та дії поділяються на три типи [3]. Вивільнений NO легко дифундує в гладеньком'язові клітини і через гуанілатциклазу реалізує свої регуляторні ефекти.

Згідно з даними літератури, при старінні суттєво змінюються ендотеліозалежні механізми регуляції судинного тону, що призводить до зниження вазодилатації та виникнення парадоксальних судинних реакцій за дії фізіологічно активних речовин [6, 7, 12]. Ці зміни значною мірою можуть бути пов'язані з порушенням продукування NO ендотеліоцитами.

Метою нашого дослідження було встановити вікові зміни продукування NO в плазмі крові та судинній стінці щурів різного віку.

© О.К. Кульчицький – д.мед.н., проф., Р.І. Потапенко – к.мед.н., О.В. Ніжанковська, 2004.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на 30 безпородних щурах-самцях, яких поділили на дві вікові групи: 8-10-місячні – дорослі, 24-26-міс – старі. Об'єктом дослідження були плазма крові та гомогенат аорти експериментальних тварин. Щурів декапітували після проведення ефірного наркозу. Через торакоабдомінальний розріз видаляли аорту до біфуркації, звільняли від сполучної тканини та адвентиції і заморожували в рідкому азоті. Гомогенат тканин аорт готували на 50 мМ трис HCl (pH=7,4) у співвідношенні тканина/буфер (1:10).

У плазмі крові й гомогенаті тканин визначали вміст стабільних метаболітів NO: нітрит-аніона (NO₂⁻) і нітрат-аніона (NO₃⁻). Рівень нітрит-аніона досліджували спектрофотометричним методом Грина з використанням реактиву Гриса [14], рівень нітрат-аніона – модифікованим методом, де як відновник застосовували "цинковий пил" [4]. Також досліджували вміст стабільних метаболітів NO в інкубаційній суміші після 90-хвилинної інкубації при температурі 37 °С. Рівень білка визначали методом Лоурі в модифікації [15].

Дані обробляли статистично з використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Отримані дані свідчать про те, що продукування NO в плазмі крові та тканині аорт з віком знижується. Так, рівень вироблення нітрат-аніона в плазмі крові дорослих щурів становив (7,03±0,31) нмоль/л, а в старих зменшувався на 98 % (4,30±0,33) нмоль/л, p<0,05). Згідно з даними

таблиці 1, в судинній стінці старих тварин сумарна концентрація кінцевих метаболітів NO на 23 % нижча у порівнянні з дорослими. Такі зміни відбувалися за рахунок зменшення вмісту нітрит-аніона на 40 %, тоді як кількість нітрат-аніона з віком істотно не змінювалась. Внаслідок вікового зниження частка нітрит-аніона у старих тварин становила 48 % від сумарного вмісту ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$), а в стінці аорти дорослих – 61 %. Отримані дані щодо зниження в плазмі крові та судинній стінці рівня кінцевих метаболітів NO можуть вказувати на зниження його синтезу ендотеліоцитами. Для підтвердження цього припущення під час дослідів *in vitro* вивчали здатність сегментів аорт дорослих і старих тварин виробляти NO_2^- і NO_3^- .

Як свідчать дані в таблиці 2, сумарне продукування стабільних метаболітів NO в аорті дорослих щурів *in vitro* на 40 % вище за таке в старих тварин. Це пов'язано з тим, що у старих тварин рівень NO_2^- на 45 %, а NO_3^- – на 28 % нижчий, ніж у дорослих. Тобто як в умовах *in vivo*, так і під час дослідів *in vitro* спостерігалось закономірне зниження рівня стабільних метаболітів NO, яке пов'язане із зменшенням вмісту нітрит-аніона.

Таблиця 1 – **Продукування стабільних метаболітів NO в судинній стінці щурів різного віку**

Показники	8-10 місяців	24-26 місяців	p
NO_2^- , нмоль/мг білка	1,30±0,09	0,79±0,03	<0,01
NO_3^- , нмоль/мг білка	0,81±0,03	0,83±0,02	
$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$	2,12±0,09	1,62±0,04	<0,01
Частка NO_2^- , %	61	48	

Таблиця 2 – **Продукування стабільних метаболітів NO в судинній стінці у щурів різного віку за умов *in vitro***

Показники	8-10 місяців	24-26 місяців	p
NO_2^- , нмоль/г тканини	156,0±9,4	87,0±12,2	<0,01
NO_3^- , нмоль/г тканини	86,0±11,0	62,0±6,1	<0,05
$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$	242,0±29,2	149,0±15,7	<0,05
Частка NO_2^- , %	64	58	

Виявлені закономірності можуть бути пов'язані з рядом факторів. Це, по-перше, вікові морфологічні зміни в ендотеліоцитах, яким притаманні суттєві порушення їх ультраструктури [5]. Важливим фактором може бути зниження при старінні активності eNOS [10]. Є відомості про порушення з віком стану мессенджерних систем (G-протеїни), що призводить до зниження виділення NO [9]. Крім того, показано, що ендотеліальна дисфункція спостерігається у щурів з генетично зумовленим прискореним старінням [17].

Можна вважати, що сукупність цих вікових факторів призводить до зниження синтезу та виділення NO, яке, в свою чергу, викликає порушення регуляції судинного тонуру та виникнення вікозалежної патології серцево-судинної системи.

ВИСНОВКИ. 1. У старих тварин зменшується рівень стабільних метаболітів NO.

2. З віком знижується здатність сегментів аорти продукувати NO_2^- та NO_3^- .

3. Зниження виробляється NO з віком є важливим фактором порушення регуляції судинного тонуру при старінні.

ЛІТЕРАТУРА

1. Затейщикова А.А., Затейщиков Д.А. Эндотелиальная регуляция сосудистого тонуса: методы исследования и клиническое значение // Кардиолог. – 1998. – № 9. – С. 68-80.
 2. Коркушко О.В., Лишнева В.Ю. Эндотелиальная дисфункция. Клинические аспекты проблемы // Кровообіг та гемостаз. – 2003. – № 2. – С. 4-15.
 3. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Реутов В.П. Оксид азота и NO-синтазы в организме млекопитающих при различных функциональных состо-

яниях // Биохим. – 2000. – **65**, № 4. – С. 485-503.

4. Орлова Е.А. Анализ нитритов и нитратов в ткани при экспериментальной острой почечной недостаточности // Укр. журн. екстремал. медицини ім. Г.О. Можаяєва. – 2002. – **3**, № 1. – С. 79-81.

5. Саркисов К.Г., Коркушко О.В., Ступина А.С. и др. Микроциркуляция и гемореология при старении человека // Пробл. старения и долголетия. – 1998. – **7**, № 3. – С. 269-278.

6. Ткаченко М.М., Сагац В.Ф., Коцюруба А.В.

та ін. Ендотелійзалежні скорочувальні реакції судинних гладеньких м'язів і вміст вільних радикалів кисню у щурів за умов старіння // Фізіол. журн. – 2002. – **48**, № 4. – С. 3-16.

7. Ткаченко М.М., Яроцький В.В., Сагач В.Ф. та ін. Вплив ацетилхоліну та аденозинтрифосфату на мембранний потенціал інтактного ендотелію аорти щурів за умов старіння // Фізіол. журн. – 2002. – **48**, № 3. – С. 3-8.

8. Born G., Schwartz C. Vascular endothelium. Stuttgart: Schattauer, 1997. – P. 390.

9. Boulanger C.M., Vanhoutte P.M. G-proteins and endothelium-dependent relaxations // J. Vascular Res. – 1997. – **34**. – P. 175-185.

10. Chou C., Yen M.N., Li C.Y. Alterations of nitric oxide synthase expression with aging and hypertension in rats // Hypertension. – 1998. – **38**, № 2. – P. 643-648.

11. Drexler H., Hornig B. Endothelial dysfunction in human disease // J. Mol. Cell Cardiol. – 1999. – **31**. – P. 51-60.

12. Frolkis V.V., Bezrukov V.V., Kulchitsky O.K. The

aging cardiovascular system. Physiology and pathology. – New York: Springer Publishing Company, 1996. – 238 p.

13. Furchgott R.F., Zawadzki K.J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine // Nature. – 1980. – **288**, № 5789. – P. 373-376.

14. Green L.C., Wagner D.A. Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrate in biological fluids // J. Anal. Biochem. – 1982. – **126**. – P. 131-138.

15. Markwell M.A.K., Haas S.M., Bieber L.L. Modification of Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples // Anal. Biochem. – 1978. – **87**, № 1. – P. 485-489.

16. Palmer R.M.J., Ferrige A.G., Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium – derived relaxing factor // Nature. – 1987. – **327**, № 6122. – P. 524-526.

17. Saito Y., Yamagishi T., Nakamura T. et al. Klotho protein protects against endothelial dysfunction // Biochem. Biophys. Res. Comm. – 1998. – **248**. – P. 324-329.

УРОВЕНЬ СТАБИЛЬНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ОКСИДА АЗОТА В ПЛАЗМЕ КРОВИ И СОСУДИСТОЙ СТЕНКЕ У КРЫС ПРИ СТАРЕНИИ

О.К. Кульчицкий, Р.И. Потапенко, О.В. Нижанковская
ИНСТИТУТ ГЕРОНТОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ, КИЕВ

Резюме

Выявлены закономерные изменения в снижении продуцирования стабильных метаболитов оксида азота в плазме крови и сосудистой стенке старых крыс по сравнению со взрослыми животными. Показано возрастное снижение выработки оксида азота в стенке аорты в условиях *in vitro*. Установлено, что эти изменения связаны с уменьшением уровня нитрит-аниона при старении.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: оксид азота, аорта, NO-синтаза, нитрит-анион, нитрат-анион, старение.

BLOOD PLASMA AND VASCULAR WALL STABLE NITROGEN OXIDE METABOLITE LEVELS IN AGING RATS

O.K. Kulchytsky, R.I. Potapenko, O.V. Nizhankovska
INSTITUTE OF GERONTOLOGY OF AMS OF UKRAINE, KYIV

Summary

The data obtained suggest regular changes in the release of blood plasma and vascular wall production of the stable nitrogen oxide metabolites in oldrats versus adult ones. There takes place an age-dependent decrease of nitrogen oxide production in the aorta wall in the *in vitro* conditions. It has been found that these changes are associated with a reduced level of the nitrite-anion in senility.

KEY WORDS: nitrogen oxide, aorta, NO-synthase, nitrite-anion, nitrate-anion, aging.

Отримано 18.05.2004 р.

Адреса для листування: О.К. Кульчицкий, лабораторія регуляції метаболізму, Інститут геронтології АМН України, вул. Вишгородська, 67, Київ-114, 04114, Україна.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОСТАТОПРОТЕКТОРНОЇ АКТИВНОСТІ СУПОЗИТОРІЇВ "ФЛАГІНАТ" НА МОДЕЛІ СКИПИДАРНОГО ПРОСТАТИТУ

Мале́к Еззе́ддін Фуа́д, І.М. Ри́женко, О.Я. Мі́щенко
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Проведено оцінку ефективності супозиторіїв "Флагінат" на щурах-самцях у трьох дозах на моделі скипидарного простатиту з визначенням впливу на біохімічні та гістоморфологічні показники в динаміці. Встановлено, що супозиторії "Флагінат" у дозі 25 мг/кг сприяють позитивній динаміці функціонального та морфологічного стану передміхурової залози з гемодинамічним типом порушення. Вони мають перевагу над препаратами порівняння – супозиторіями з олією насіння гарбуза та супозиторіями "Просталін".

КЛЮЧОВІ СЛОВА: супозиторії "Флагінат", простатопротекторна активність, простатит.

ВСТУП. Хронічний простатит є одним із найпоширеніших захворювань у чоловіків репродуктивного віку [10, 11]. Ключовою проблемою при даній патології є зниження якості життя, яке значною мірою залежить від стану статевої функції, що порушується за простатиту [1,7]. Відновити функцію передміхурової залози дуже важко, тому лікування хронічного простатиту тривале, а його ефективність, на жаль, залишається низькою.

Більшість лікарських засобів, що застосовуються, мають побічну дію: нефротоксичність, здатність алергізувати та сенсibiliзувати організм, особливо при тривалому використанні [4].

У зв'язку з цим, більшого значення у комплексному лікуванні хронічного простатиту набуває використання препаратів рослинного походження, для яких характерні виражена терапевтична активність і незначна токсичність.

Метою даної роботи стало дослідження простатопротекторної активності супозиторіїв "Флагінат", одержаних на основі субстанції з трави звіробою, порівняно з препаратами – супозиторіями з олією з насіння гарбуза та супозиторіями "Просталін".

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. В експерименті використовували білих нелінійних щурів-самців масою 200-220 г. Простатит викликали шляхом

© Мале́к Еззе́ддін Фуа́д, І.М. Ри́женко – д.мед.н., проф., О.Я. Мі́щенко – к.мед.н., 2004.

двократного ректального введення тваринам 1 мл суміші скипидару з димексидом у співвідношенні 3:1. Останній застосовували як пене-трант, що посилює проникність біомембран та сприяє більш повному всмоктуванню скипидару [9].

Супозиторії "Флагінат" вводили в дозах 12,5, 25, 50 мг/кг; супозиторії з олією насіння гарбуза – в дозі 60 мг/кг; супозиторії "Просталін" у дозі 12 мг/кг за вмістом екстракту ромашки. Дози препаратів порівняння для щурів розраховували за допомогою коефіцієнта видової стійкості Ю.Р. Риболовлева, виходячи з добових доз для людини.

Досліджувані препарати вводили ректально один раз на добу, починаючи з першого дня досліджу. Оцінку їх ефективності проводили в динаміці на 9-ту та 15-ту доби за такими показниками: визначали кількість лейкоцитів та лейкоцитарну формулу, інтенсивність перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) за вмістом ТБК-активних продуктів у гомогенаті простати [6], рівень відновленого глутатіону – за методом [2], активність кислоти фосфатази в гомогенаті органа – за методом [9]. Розраховували фосфатазний індекс – відношення кислоти фосфатази до лужної (КФ/ЛФ), що опосередковано характеризує ступінь андрогенної насиченості організму [3].

Для гістологічних досліджень біоптати простати щурів фіксували в 10 % розчині нейт-

рального формаліну, заливали в целоїдин-парафін. Зрізи для оглядової мікроскопії фарбували гематоксиліном та еозином [5].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У щурів розвиток простатиту характеризувався лейкоцитозом. На 9-ту та 15-ту доби дослідження він становив $27,85 \pm 4,32 \cdot 10^9/\text{л}$ і $26,65 \pm 4,38 \cdot 10^9/\text{л}$ відповідно проти $13,54 \pm 1,58 \cdot 10^9/\text{л}$ у інтактного контролю. Лейкоцитоз супроводжувався підвищенням рівня лімфоцитів на тлі нейтропенії. Доказом порушення функції простати стало достовірне зниження масового коефіцієнта передміхурової залози (інтактний контроль $0,56 \pm 0,03$; контрольна патологія на 9-ту добу – $0,26 \pm 0,03$, на 15-ту добу – $0,40 \pm 0,06$; $p < 0,05$). Крім цього, спостерігались зниження активності кислоти фосфатази у гомогенаті простати, фосфатазного індексу, антиоксидного захисту та посилення процесів ПОЛ порівняно з інтактним контролем. Максимальний розвиток патології мав місце на 9-ту добу дослідження. На 15-ту добу в групі тварин контрольної патології відбувалось зниження інтенсивності ПОЛ. Усі інші показники хоча і мали тенденцію до нормалізації, проте не досягали рівня інтактного контролю (табл. 1).

Введення досліджуваних препаратів призводило до незначного зменшення лейкоцитозу, але достовірного підвищення рівня нейтрофілів порівняно з тваринами групи контрольної патології.

Під впливом супозиторіїв "Флагінат" у досліджуваних дозах, на відміну від препаратів порівняння, відбувались позитивні зміни масового коефіцієнта передміхурової залози. Так, на 9 добу дослідження він становив, залежно від дози, в середньому для супозиторіїв "Флагінат" $0,45 \pm 0,06$, для супозиторіїв з олією насіння гарбуза – $0,38 \pm 0,05$, а для супозиторіїв "Просталін" – $0,30 \pm 0,06$.

Усі препарати сприяли відновленню активності простатичної кислоти фосфатази, що призвело до підвищення фосфатазного індексу, який свідчив про ступінь андрогенізації організму (табл. 1).

Під впливом препаратів спостерігалось достовірне відносно контрольної патології пригнічення процесів ПОЛ. Підвищення антиоксидного захисту клітин відбувалось тільки при введенні супозиторіїв "Флагінат" у дозі 25 мг/кг та супозиторіїв з олією насіння гарбуза. У супозиторіїв "Флагінат" вказаний ефект реалізувався як за рахунок суто

Таблиця 1 – Вплив супозиторіїв "Флагінат" та препаратів порівняння на біохімічні показники гомогенату простати у щурів на моделі скипидарного простатиту

Групи	Показники				
	Кисла фосфатаза, ммоль/год·л	Лужна фосфатаза, ммоль/год·л	КФ/ЛФ	ТБК-активні продукти, ммоль/г	Відновлений глутатіон, ммоль/г
9-та доба					
Інтактний контроль	$1,96 \pm 0,26$	$3,42 \pm 0,70$	0,57	$23,72 \pm 3,83$	$0,74 \pm 0,015$
Контрольна патологія	$1,07 \pm 0,31^*$	$3,24 \pm 0,14$	0,33	$65,38 \pm 0,91^*$	$0,27 \pm 0,08^*$
Супозиторії "Флагінату", 12,5 мг/кг	$1,16 \pm 0,02^*$	$2,66 \pm 0,34$	0,44	$56,96 \pm 3,16^{**}$	$0,35 \pm 0,07^*$
Супозиторії "Флагінату", 25 мг/кг	$2,26 \pm 0,16^{**}$	$3,13 \pm 0,37$	0,72	$30,98 \pm 5,06^{**}$	$0,50 \pm 0,05^{**}$
Супозиторії "Флагінату", 50 мг/кг	$2,00 \pm 0,30^{**}$	$3,33 \pm 0,39$	0,60	$44,71 \pm 1,11^{**}$	$0,49 \pm 0,14$
Супозиторії з олією насіння гарбуза	$2,08 \pm 0,03^{**}$	$3,60 \pm 0,63$	0,58	$39,48 \pm 1,46^{**}$	$0,60 \pm 0,05^{**}$
Супозиторії "Просталін"	$1,71 \pm 0,19^{**}$	$2,86 \pm 0,41$	0,59	$37,18 \pm 0,91^{**}$	$0,43 \pm 0,07^*$
15-та доба					
Контрольна патологія	$1,06 \pm 0,20^*$	$3,58 \pm 0,35$	0,29	$25,38 \pm 3,88$	$0,31 \pm 0,08^*$
Супозиторії "Флагінату", 12,5 мг/кг	$1,28 \pm 0,18$	$3,09 \pm 0,53$	0,41	$18,11 \pm 3,09$	$0,40 \pm 0,07^*$
Супозиторії "Флагінату", 25 мг/кг	$2,33 \pm 0,17^{**}$	$3,73 \pm 0,38$	0,62	$19,71 \pm 4,15$	$0,65 \pm 0,19$
Супозиторії "Флагінату", 50 мг/кг	$1,90 \pm 0,17^{**}$	$3,91 \pm 0,19$	0,48	$33,33 \pm 7,87$	$0,58 \pm 0,18$
Супозиторії з олією насіння гарбуза	$1,80 \pm 0,32^{**}$	$3,12 \pm 0,39$	0,57	$33,65 \pm 4,39$	$0,42 \pm 0,11$
Супозиторії "Просталін"	$2,28 \pm 0,15^{**}$	$3,99 \pm 0,41$	0,57	$31,42 \pm 1,19$	$0,48 \pm 0,07^*$

Примітка. * – відхилення, достовірні відносно інтактного контролю, $p \leq 0,05$;

** – відхилення, достовірні відносно групи з контрольною патологією, $p \leq 0,05$.

антиоксидних властивостей, так і завдяки мембраностабілізуючій дії.

На 15-ту добу досліду простатопротекторна дія супозиторіїв "Флагінат" у дозі 25 мг/кг характеризувалась відновленням масового коефіцієнта пухирчастої залози. У групах тварин з препаратом порівняння – супозиторіями з олією насіння гарбуза – спостерігалась лише тенденція до його підвищення, а у щурів, яким вводили супозиторій "Просталін", масовий коефіцієнт передміхурової залози був на рівні контрольної патології.

Таким чином, із трьох досліджуваних доз супозиторіїв "Флагінат" найбільш ефективною була доза 25 мг/кг. За вираженням простатопротекторної дії супозиторії "Флагінат" у цій дозі мали перевагу над вибраними препаратами порівняння, про що свідчать результати дослідження гістоструктури простати.

На 9-ту добу після двократного ректального введення суміші скипидару з димексидом у дорсолатеральній частині передміхурової залози в ділянці, яка безпосередньо прилягає до передньої стінки прямої кишки, розвинулося осередкове запалення міжкоміркової строми алергічного характеру, про що свідчила наявність в інфільтратах переважно еозинофілів. Запалення супроводжувалося порушенням

місцевої гемодинаміки та розвитком загальних реакцій – лейкоцитозом. Через 15 діб запальні ознаки у частини щурів посилювалися.

Лікування супозиторіями "Флагінат" знижувало вираження запальних і гемодинамічних змін передміхурової залози щурів та супровідних порушень у залозистій основі органа. Найбільший ефект відмічено при введенні супозиторіїв у дозі 25 мг/кг. Підвищення дози до 50 мг/кг істотно не вплинуло на активність препарату.

За результатами гістологічних досліджень, препарати порівняння – супозиторії з олією насіння гарбуза та супозиторії "Просталін" – дещо поступаються супозиторіям "Флагінат" у дозі 25 мг/кг.

ВИСНОВКИ. 1. Супозиторії "Флагінат" сприяють позитивній динаміці функціонального та морфологічного стану передміхурової залози тварин з експериментальним простатитом гемодинамічного типу порушення.

2. Найбільша простатопротекторна дія супозиторіїв "Флагінат" проявляється в дозі 25 мг/кг.

3. За ефективністю супозиторії "Флагінат" у дозі 25 мг/кг мають перевагу над препаратами порівняння – супозиторіями з олією насіння гарбуза та супозиторіями "Просталін".

ЛІТЕРАТУРА

1. Арнольди Э.К. Хронический простатит. – Ростов-на-Дону // Феникс. – 1999. – 2. – С. 320.
2. Арутюнян А.В., Дубина Е.Е., Зыбина Н.Н. // Методические рекомендации. – С. Пб.: ИКФ Фолиант, 2000. – 104 с.
3. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: В 2 т. – Минск: Беларусь, 2000. – 495 с.
4. Литвинець Е.А., Зеляк М.В., Томусяк Т.Л. Фітотерапія хронічного простатиту // Урологія. – 2003. – № 1. – С. 102-108.
5. Меркулов Г.А. Курс патологической техники. – М.: Медицина, Ленинградское отд., 1969. – 424 с.
6. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.
7. Стусь В.П. Хронический простатит. – Д.: Порош, 1996. – 66 с.
8. Хейфец В.Х., Забежинский М.А., Хролович А.Б., Хавинсон В.Х. Экспериментальные модели хронического простатита // Урология. – 1999. – № 5. – С. 48-53.
9. Юнда И.Ф. Простатиты. – К.: Здоров'я, 1987. – 192 с.
10. Collins M.M., O'Leary M.P., Calhoun E.A. et al. The Spanish National Institute of Health- chronic prostatitis symptom index: translation and linguistic validation // Ibid. – 2001. – 166. – P. 1800-1803.
11. Giuliano F., Pena B.M., Mishra A., Smith M.D. Efficacy results and quality of life measures in men receiving sildenafil citrate to the treatment of erectile dysfunction // Qnal. Life Res. – 2001. – 10. – P. 359-369.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОСТАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ СУППОЗИТОРИЕВ "ФЛАГИНАТ" НА МОДЕЛИ СКИПИДАРНОГО ПРОСТАТИТА

Мале́к Эззе́ддин Фуа́д, И.М. Ры́женко, О.Я. Ми́щенко
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Проведена оценка эффективности суппозиторий "Флагинат" на крысах-самцах в трех дозах на модели скипидарного простатита с определением влияния на биохимические и гистоморфологические показатели в динамике. Установлено, что суппозитории "Флагинат" в дозе 25 мг/кг способствуют положительной динамике функционального и морфологического состояния предстательной железы с гемодинамическим типом нарушения. Они превосходят препараты сравнения – суппозитории с маслом семян тыквы и суппозитории "Просталин".

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: суппозитории "Флагинат", простатопротекторная активность, простатит.

EXPERIMENTAL INVESTIGATION OF PROSTATOPROTECTIVE ACTIVITY OF SUPPOSITORIES "FLAGINAT" IN TERPINTINE PROSTATITIS MODEL

Malek Ezzeddine Fouad, I.M. Ryzhenko, O.Y. Mischenko
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

Summary

The effectiveness of suppositories "Flaginat" in terpine model (in male rats using 3 different doses) was estimated and the influence on biochemical and hystomorphological markers was investigated. It is proved, that suppositories "Flaginat" (dose 25 mg/kg) improve the positive dynamics of functional and morphological state of prostate in case of its haemodynamic disorder. Suppositories "Flaginat" have the advantage over the medicine of comparison – suppositories with Cucurbital oil and complex drug "Prostalin".

KEY WORDS: suppositories "Flaginat", prostatoprotective activity, prostatitis.

Отримано 03.06.2004 р.

Адреса для листування: І.М. Риженко, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова, 12, Харків, 61002, Україна.

Для отримання оперативної інформації звертайтеся
до нашої сторінки в Інтернеті:
www.tdmu.edu.te.ua

ВПЛИВ КАРБАХОЛІНУ ТА КАСТРАЦІЇ НА ГЛІКОЛІЗ, ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДНУ СИСТЕМУ МІОКАРДА ЩУРІВ САМЦІВ І САМОК ПРИ АДРЕНАЛІНОВОМУ ПОШКОДЖЕННІ

М.Р. Хара

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

У міокарді кастрованих щурів-самців і самок вивчали активність гліколізу, перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидної системи при адреналіновому пошкодженні. Адреналін інтенсивніше порушує метаболізм серця кастрованих самок завдяки нагромадженню продуктів гліколізу та ПОЛ. Карбахолін не зменшує метаболічний дисбаланс у міокарді кастрованих тварин, особливо самок. Кастрація нівелює захисні властивості карбахоліну.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: міокард, адреналін, карбахолін, кастрація, метаболізм.

ВСТУП. Відомо, що чоловіки частіше за жінок страждають від серцево-судинних захворювань. Доведено [5], що адреналінове пошкодження міокарда внаслідок активації перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), нагромадження молочної (МК) та піровиноградної (ПВК) кислот інтенсивніше проявляється у самців. Але ще не вивчено вплив зниження активності статевих залоз на метаболізм міокарда при патології, а також роль холіноміметиків, що зменшують потребу серця в кисні. Метою досліджень було вивчення впливу кастрації і карбахоліну на гліколіз, ПОЛ і антиоксидну систему (АОС) в серці щурів самців і самок при адреналіновому пошкодженні.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на 100 кастрованих статевозрілих щурах-самцях (♂) і самках (♀) лінії Вістар. Пошкодження міокарда (АПМ) викликали адреналіном (1 мг/кг), карбахолін (КХ) вводили за 5 хв (0,4 мг/кг) до моделювання АПМ. Визначали рівень ПВК, МК (табл. 1), активність ПОЛ за рівнем дієнових кон'югат (ДК) і малонового діальдегіду (МДА), АОС – за активністю супероксиддисмутази (СОД), каталази, рівнем-SH-груп [1, 2, 3, 4, 7].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. АПМ у кастрованих ♀ викликав більше, ніж у кастрованих ♂, нагромадження продуктів гліколізу, що відображає порушення регуляції метаболізму

© М.Р. Хара – к.мед.н., 2004.

при надмірній активації адренергічних структур міокарда на тлі зниження рівня естрогенів. Попереднє введення КХ (аналога ацетилхоліну, що здатний знижувати інтенсивність обмінних процесів) кастрованим тваринам не сповільнило нагромадження ПВК і МК у міокарді при розвитку АПМ. Це доводить значну роль статевих гормонів у регуляції гліколізу і формуванні активності холінорецепторів міокарда. Відсутність реакції метаболічних систем міокарда кастрованих тварин на КХ узгоджується з даними [6] про зменшення чутливості серця до препарату після кастрації. Чутливішими до спричинених впливів виявилися а. Кастрація викликала зростання активності СОД у а, що, очевидно, відображає компенсаторну реакцію організму на значне зниження рівня естрогенів, які мають антиоксидантні властивості. Розвиток АПМ у кастрованих а викликає інтенсивніше, ніж у ♂, нагромадження ДК і МДА та активацію СОД, що вказує на значний ступінь мембраноруйнівного процесу. Відмінностей за рівнем -SH-груп та активністю каталази між тваринами різної статі не було. Динаміка показників ПОЛ та АОС при моделюванні АПМ на тлі КХ була аналогічною, як у групах кастрованих тварин, де препарат не використовувався (табл. 2). Це свідчить про нівелювання протекторного ефекту КХ за умов кастрації. Отримані дані доводять активну участь статевих гормонів, особливо естрогенів, у формуванні пристосувальних метаболічних реакцій міокарда за умов гіперад-

реналемії, а також застосуванні з метою кардіо-протекції холіноміметика. Враховуючи залежність активності холінорецепторних структур і метаболізму від активності статевих гормонів, доцільно було б дослідити вплив холіноблокаторів на метаболізм серця некастрованих та кастрованих щурів-самців і самок.

ВИСНОВКИ. 1. Адреналінове пошкодження міокарда кастрованих тварин викликає нагро-

мадження продуктів гліколізу, ПОЛ та активацію АОС. Інтенсивніші порушення метаболізму, що виникають у серці кастрованих самок, доводять захисну роль естрогенів у формуванні пристосувальних змін.

2. Холіноміметик карбахолін не зменшує ступінь нагромадження продуктів гліколізу і ПОЛ у міокарді кастрованих тварин. Кастрація нівелює захисні властивості даного препарату.

Таблиця 1 – Рівень ПВК та МК (мкмоль/кг) у міокарді кастрованих тварин при дії кардіотоксичної дози адреналіну

		Контроль		Адреналін (1 год)		Адреналін (24 год)	
		–	КХ	–	КХ	–	КХ
ПВК	–	0,72±0,03	0,74±0,04	0,92±0,03 ¹	0,85±0,03	0,81±0,04 ³	0,83±0,03
	α	0,78±0,03	0,71±0,04	0,91±0,03 ^{1,3}	0,73±0,03 ^{2,3,4}	1,12±0,05 ^{1,2,3}	0,79±0,03 ⁴
МК	–	1,13±0,06	1,21±0,07	1,80±0,05 ^{1,3}	2,19±0,04 ^{1,3,4}	2,64±0,09 ¹	2,79±0,05 ^{1,3}
	α	0,94±0,05	1,03±0,05	2,12±0,07 ^{1,2,3}	2,09±0,06 ^{1,2,3}	2,98±0,09 ^{1,2,3}	2,78±0,07 ^{1,2,3}

Примітка. ¹ – відмінність достовірна (p<0,05) відносно контролю; ² – відмінність між статтями; ³ – відмінність між некастрованими та кастрованими тваринами; ⁴ – без та за умов застосування КХ.

Таблиця 2 – Показники ПОЛ та АОС міокарда кастрованих тварин при токсичній дії адреналіну

		Контроль		Адреналін (1 год)		Адреналін (24 год)	
		–	КХ	–	КХ	–	КХ
α	ДК, відн. од.	217,5±4,3	225,1±3,5 ³	244,4±5,9 ¹	251,6±3,4 ^{1,3}	250,1±3,9 ^{1,3}	269,1±6,3 ^{1,3}
	МДА, мкмоль/кг	3,17±0,18	3,26±0,15	4,53±0,12 ¹	3,85±0,13 ⁴	4,75±0,20 ^{1,3}	5,14±0,19 ^{1,3}
	ДК, відн. од.	221,1±6,1	209,2±4,8	245,6±4,8 ¹	259,4±5,1 ^{1,3}	285,9±4,3 ^{1,2,3}	297,4±4,1 ^{1,2,3}
	МДА, мкмоль/кг	3,98±0,11 ^{2,3}	3,59±0,14	4,75±0,13 ^{1,3}	4,20±0,16 ^{1,4}	5,29±0,17 ^{1,3}	5,19±0,19 ^{1,3}
α	СОД, од. акт./год·кг	13,6±0,4	13,8±0,5	14,7±0,4 ³	15,1±0,3	15,6±0,5 ¹	15,0±0,5
	КАТ, кат/кг	15,5±0,5	16,1±0,4	21,4±0,6 ¹	19,2±0,4 ¹	28,8±0,8 ¹	24,7±0,7 ¹
	-SH-, ммоль/кг	1,35±0,06	1,29±0,04	1,63±0,07 ¹	1,49±0,07 ³	1,73±0,08 ¹	1,79±0,06 ¹
	СОД, од. акт./год·кг	16,7±0,3 ²	15,6±0,5	19,7±0,5 ^{1,2,3}	18,6±0,6 ^{1,2,3}	24,3±0,6 ^{1,2,3}	22,5±0,5 ^{1,2,3}
α	КАТ, кат/кг	16,0±0,5	15,6±0,5	23,5±0,6 ¹	20,7±0,6 ¹	28,1±0,9 ¹	27,5±0,8 ¹
	-SH-, ммоль/кг	1,23±0,07	1,31±0,05 ⁴	1,52±0,08 ⁴	1,61±0,05 ¹	1,79±0,07 ¹	1,83±0,05 ^{1,4}

Примітка. ¹ – відмінність достовірна (p<0,05) відносно контролю; ² – відмінність між статтями; ³ – відмінність між некастрованими та кастрованими тваринами; ⁴ – без та за умов застосування КХ.

ЛІТЕРАТУРА

- Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А., Ефимова Л.Ф. Активность и изоферментный спектр супероксид-дисмутазы эритроцитов плазмы крови человека // Лаб. дело. – 1983. – № 10. – С. 30-33.
- Корольюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
- Прохорова М.И. Методы биохимических исследований: липидный и энергетический обмен. – Ленинград: Изд-во ЛГУ, 1982. – 271 с.
- Стальная И.Д. Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 63-64, 66-68.

- Хара М.Р. Динаміка показників гліколізу, ПОЛ та АОС у самців і самок щурів з адреналіновою міокардіодистрофією // Мед хімія. – 2002. – 4, № 4. – С. 73-75.
- Хара М.Р. Модулюючий вплив карбахоліну та кастрації на холінергічну регуляцію серцевого ритму щурів різної статі в умовах пошкодження міокарда адреналіном // Вісн. Укр. мед. стомат. акад. – 3, вип. 2. – С. 13-15.
- Ellman G.I. Tissue sulfhydryl groups // Arch. Broche. Biophys. – 1959. – 82. – P. 70-77.

ВЛИЯНИЕ КАРБАХОЛИНА И КАСТРАЦИИ НА ГЛИКОЛИЗ, ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДНУЮ СИСТЕМУ МИОКАРДА КРЫС-САМЦОВ И САМОК ПРИ АДРЕНАЛИНОВОМ ПОВРЕЖДЕНИИ

М.Р. Хара

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

В миокарде кастрированных крыс-самцов и самок изучали активность гликолиза, перекисного окисления (ПОЛ) и антиоксидную систему при адреналиновом повреждении. Адреналин интенсивнее нарушает метаболизм сердца кастрированных самок благодаря накоплению продуктов гликолиза и ПОЛ. Карбахолин не уменьшает метаболический дисбаланс в миокарде кастрированных животных, особенно самок. Кастрация нивелирует защитные свойства карбахолина.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: миокард, адреналин, карбахолин, кастрация, метаболизм.

CARBACHOLIN AND CASTRATION INFLUENCE ON GLYCOLYSIS, LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT SYSTEM OF RAT MALE AND FEMALE MYOCARDIUM AT ADRENALIN INJURY

M.R. Khara

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

Glycolysis, lipid peroxidation and antioxidant system activity in myocardium of castrated male and female rats at adrenalin myocardium injury have been studied. Adrenalin more intensive violates heart metabolism in castrated females due to glycolysis and LPO metabolites accumulation. Carbacholin doesn't decrease metabolic disbalance in myocardium of castrated animals, especially of females. Castration maintains carbacholin protective properties.

KEY WORDS: myocardium, adrenalin, carbacholin, castration, metabolism.

Отримано 14.04.2004 р.

Адреса для листування: М.Р. Хара, Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

Для отримання оперативної інформації звертайтеся
до нашої сторінки в Інтернеті:
www.tdmu.edu.te.ua

ВПЛИВ ПРОФІЛАКТИЧНОГО ВВЕДЕННЯ ГЛУТАРГІНУ ТА N-НІТРО-L-АРГІНІНУ НА ДЕЯКІ БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПРИ ГЕМІЧНІЙ ГІПОКСІЇ, ВИКЛИКАНІЙ ІНГАЛЯЦІЄЮ ЧАДНОГО ГАЗУ

В.В. Ніколаєва

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Встановлено, що в результаті профілактичного введення щурам глутаргіну перед гемічною СО-гіпоксією підвищується активність каталази та супероксиддисмутази, зменшується вміст ТБК-активних продуктів і гідроперекисів ліпідів у гомогенатах печінки, нирок, серця та мозку. Вміст нітрит-аніона зростає у гомогенатах досліджуваних органів та знижується у сироватці крові. Введення N-нітро-L-аргініну перед СО-гіпоксією призводить до підвищення вмісту ТБК-активних продуктів і гідроперекисів ліпідів й зниження активності каталази та супероксиддисмутази. Вміст нітрит-аніона у гомогенатах органів зменшується, а у сироватці крові зростає.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: глутаргін, N-нітро-L-аргінін, оксид азоту, перекисне окиснення ліпідів, антиоксиданти, монооксид вуглецю, гемічна гіпоксія.

ВСТУП. Численні спроби покращання прогнозу при гострому отруєнні чадним газом, на жаль, не призвели до значних успіхів [9]. Тому пошук способів профілактики та лікування СО-гіпоксії є важливим завданням. З іншого боку, існує ряд повідомлень про позитивний вплив оксиду азоту на перебіг різних патологічних станів, що супроводжуються гіпоксією [3, 6, 7]. Вважають, що вміла фармакологічна корекція попередниками біосинтезу оксиду азоту може відігравати важливу роль у лікуванні та профілактиці гіпоксичних уражень [8].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на 24 білих нелінійних щурах-самцях масою 180-200 г. Глутаргін та N-нітро-L-аргінін вводили, відповідно, по 100 та 10 мг/кг маси тіла внутрішньоочередово щоденно протягом 4-х діб. Контрольними для цих серій були показники щурів, які перенесли СО-гіпоксію (ГГ), для ГГ – показники інтактних тварин. ГГ викликали шляхом гострого інгаляційного впливу СО в концентрації 9000 мг/м³ (експозиція – 15 хв) за допомогою розробленого нами пристрою [5]. Визначали: у гомогенатах печінки, нирок, серця та мозку – активність каталази (КТ) [4], супероксиддисмутази (СОД) [10], вміст гідроперекисів ліпідів (ГЛ) [1] та ТБК-активних продуктів (ТБК) [11], у внутрішніх органах і у сироватці крові – вміст нітрит-аніону

[6]. Результати досліджень обробляли статистично, використовуючи критерій t-Стюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що при ГГ в органах тварин значно зростає вміст ТБК-активних продуктів: у печінці – на 102 %, у нирках – на 75 %, у серці – на 68 %, у мозку – на 82 % порівняно з контролем. Вміст ГЛ теж достовірно збільшувався на 36, 10, 28 та 33 % відповідно (табл. 1). Одночасно у всіх досліджуваних органах зменшувалася активність КТ і СОД: на 59 і 52 % у печінці, на 79 і 59 % у нирках, на 57 і 64 % у серці, на 44 і 45 % у мозку відповідно (табл. 1).

На цьому тлі у гомогенатах печінки та мозку достовірно знижувався вміст нітрит-аніона: (на 11 % та 10 % відповідно), у серці та нирках спостерігалася тенденція до зменшення даного показника. Середній вміст карбоксигемоглобіну в крові тварин, які перенесли ГГ, становив 81 %.

Профілактичне введення глутаргіну призводило до збільшення вмісту нітрит-аніона: на 33 % у печінці, на 41 % у нирках, на 42 % у серці, на 41 % у мозку. Це супроводжувалося достовірним зменшенням вмісту ТБК та ГЛ, а також зростанням активності КТ та СОД у всіх досліджуваних органах порівняно із тваринами, які перенесли ГГ (табл. 1). Вміст карбоксигемоглобіну у тварин вірогідно знижувався порівняно із щурами, які перенесли ГГ. Змен-

© В.В. Ніколаєва, 2004.

шення інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів у цій серії дослідів, можливо, пов'язане із зниженням вмісту активних форм кисню, що відбувається за участю цГМФ, синтез якого індукується оксидом азоту [2]. Крім того, доведено, що NO здатний активувати експресію антиоксидних ферментів [7], з чим, ймовірно, пов'язане зростання активності КТ і СОД.

Інші закономірності нами отримані при вивченні профілактичного введення N-нітро-L-аргініну перед інгаляційним впливом чадного газу. При цьому відбувалося збільшення вмісту ТБК та ГЛ у печінці (на 11 і 10 %) і нирках (на 6 і 10 %), у серці та мозку простежувалася тенденція до зростання даних показників.

Одночасно знижувалася активність ферментів антиоксидантного захисту: КТ – на 13 % у печінці, на 11 % у нирках, на 13 % у серці, на 8% у мозку, а СОД – на 12 % у печінці порівняно із тваринами, які перенесли ГГ. Вказані зміни виникали на фоні зменшення вмісту нітрит-аніона у гомогенатах органів: печінки – на 51 %, нирок – на 28 %, серця – на 19 %, мозку – на 30 %.

Вміст карбоксигемоглобіну в цій групі щурів становив 78 % і достовірно не відрізнявся від показника у групі тварин з гострою ГГ.

Вважаємо, що погіршення досліджуваних показників у даній серії дослідів може бути пов'язане з поглибленням дефіциту утворення оксиду азоту.

Таблиця 1 – Вплив глутаргіну та N-нітро-L-аргініну на деякі показники перекисного окиснення ліпідів та активність антиоксидних ферментів у внутрішніх органах щурів при СО-гіпоксії (M±m)

Показник		ТБК, ум. од	ГЛ, ум. од./кг	КТ, кат/кг	СОД, ум. од./кг
Серії дослідів					
Контроль	печінка	5,63±0,12	5,84±0,04	19,03±0,19	3,78±0,05
	нирки	4,85±0,14	5,55±0,03	12,11±0,05	3,26±0,09
	серце	4,39±0,04	4,57±0,05	3,64±0,03	3,26±0,04
	мозок	6,85±0,09	6,09±0,05	3,81±0,02	4,17±0,06
ГГ	печінка	11,39±0,24	7,96±0,05	7,75±0,29	1,82±0,07
	нирки	8,48±0,14	6,07±0,06	2,49±0,08	1,35±0,04
	серце	7,39±0,17	5,87±0,07	1,5 ±0,11	1,17±0,04
	мозок	12,47±0,18	8,11±0,08	2,14±0,04	2,28±0,07
ГГ+глутаргін	печінка	5,94±0,17**	5,27±0,05**	14,66±0,09**	3,74±0,06**
	нирки	5,48±0,15**	5,03±0,05**	5,49±0,05**	2,91±0,05**
	серце	4,99±0,09**	4,65±0,05**	2,49±0,05**	3,28±0,04**
	мозок	7,51±0,09**	5,41±0,05**	2,84±0,06**	3,97±0,05**
ГГ+N-нітро-L-аргінін	печінка	12,66±0,27*	8,53±0,08*	6,71±0,09*	1,59±0,02*
	нирки	9,00±0,17*	6,30±0,05*	2,21±0,05*	1,27±0,02
	серце	7,65±0,09	5,91±0,06	1,38±0,05	1,08±0,02
	мозок	12,81±0,12	8,28±0,06	1,96±0,04*	2,17±0,05

Примітка. * – достовірність відносно контролю, ** – відносно СО-гіпоксії.

ВИСНОВКИ. 1. Прекурсор синтезу оксиду азоту глутаргін при його профілактичному введенні перед СО-гіпоксією попереджує інтенсифікацію процесів перекисного окиснення ліпідів у печінці, нирках, серці та мозку щурів, сприяє відновленню синтезу у внутрішніх органах оксиду азоту та зменшенню кількості карбоксигемоглобіну в крові.

2. N-нітро-L-аргінін при попередньому введенні перед гемічною гіпоксією, викликанною інгаляцією СО, сприяє прогресуванню патологічних змін у системі "прооксиданти-антиоксиданти", подальшому зменшенню кількості нітрит-аніона у печінці, нирках, серці та мозку експериментальних тварин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гаврилов В.П., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33-35.
2. Смирин Б.В., Покидышев Д.А., Малышев И.Ю. и др. Депонирование оксида азота как фактор адаптационной защиты // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2000. – № 4. – С. 447-454.

3. Пшенникова М.Г., Смирин Б.В., Бондаренко О.Н. и др. Депонирование оксида азота у крыс разных генетических линий и его роль в антистрессорном эффекте адаптации к гипоксии // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2000. – № 2. – С. 174-181.

4. Ковальская К.С., Мордвинцев П.И., Ванин А.Ф. Влияние кровопотери на содержание оксида азота в печени, слизистой оболочке и мышечном слое тонкой кишки крыс // БЭБИМ. – 1999. – **128**, № 8. – С. 153-156.

5. Королюк М.А., Иванова Л.И., Маерова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-18.

6. Голиков П.П., Николаева Н.Ю., Гавриленко И.А. и др. Оксид азота и перекисное окисление липидов как факторы эндогенной интоксикации при неотложных состояниях // Патол. Физиол. и эксперим. тер. – 2000. – № 2. – С. 6-9.

7. Пат. 55682 А. Україна, МПК G09B23/28. Пристрій для інгаляційного затруєння тварин монооксидом вуглецю / К.А. Посохова, В.В. Буковська,

О.В. Гриців, В.В. Дем'яненко. – 2002043461; Заявл. 25.04.2002; Опубл. 15.04.2003, Бюл. № 4. – 2 с.

8. Соловйов А.І., Стефанов О.В. Терапевтичні донори оксиду азоту: клітинні механізми дії та перспективи клінічного застосування // Ліки. – 1996. – № 5-6. – С. 50-53.

9. Храпак В.В. Профілактика гіпоксичних пошкоджень при гострих масових отруєннях // Методичні рекомендації. – К., 2000. – 40 с.

10. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678-684.

11. Placer Z. Lipoperoxidation systems in biological material. 2. Mitt. Bestimmung der lipoperoxidation in saugtier organismen // Die Nahrung. – 1968. – **12**, № 6. – S. 679-684.

ВЛИЯНИЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ ГЛУТАРГИНА И N-НИТРО-L-АРГИНИНА НА НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ ГЕМИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ, ВЫЗВАННОЙ ИНГАЛЯЦИЕЙ УГАРНОГО ГАЗА

В.В. Николаева

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Установлено, что в результате профилактического введения крысам глутаргина перед гемической СО-гипоксией повышается активность каталазы и супероксиддисмутазы, уменьшается содержание ТБК-активных продуктов и гидроперекисей липидов в гомогенатах печени, почек, сердца и мозга. Содержание нитрит-аниона возрастает в гомогенатах исследуемых органов и снижается в сыворотке крови. Введение N-нитро-L-аргинина перед СО-гипоксией, приводит к повышению содержания ТБК-активных продуктов и гидроперекисей липидов и снижению активности каталазы и супероксиддисмутазы. Содержание нитрит-аниона в гомогенатах органов уменьшается, а в сыворотке крови возрастает.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: глутаргин, N-нитро-L-аргинин, оксид азота, перекисное окисление липидов, антиоксиданты, монооксид углерода, гемическая гипоксия.

INFLUENCE OF PROPHYLACTIC INJECTION OF GLUTARGIN AND N-NITRO-L-ARGININ ON SOME BIOCHEMICAL INDICES AT THE HEMIC HYPOXIA, CAUSED BY INHALATION OF CARBON MONOXIDE

V.V. Nikolayeva

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

In the experiments on the rats it has been established that the injection of glutargin before the hemic hypoxia causes the growth of catalase and superoxidizedismutase activity, the decrease of content of TBA-active products and lipid hydroperoxide in liver, kidneys, heart and brain. The content of nitrite-anion grows up in homogenates of the organs and decreases in the blood serum. The injection of N-nitro-L-arginin before the inhalation of carbon monoxide results in the increase of content of TBA-active products and lipid hydroperoxides as well as the decrease of catalase and superoxidizedismutase activity. The content of nitrite-anion in homogenates of the organs decreases, but it increases in blood serum.

KEY WORDS: glutargin, N-nitro-L-arginin, nitric oxyde, lipid peroxidation, antioxidants, carbon monoxide, hemic hypoxia.

Отримано 8.10.2004 р.

Адреса для листування: В.В. Николаева, Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

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

О.С. Покотило, Л.С. Фіра, І.М. Кліщ

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

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

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

ВСТУП. Упродовж останніх років у дослідях на лабораторних тваринах інтенсивно вивчають вплив поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) родини n-3 і n-6 на різні сторони обміну речовин в організмі, особливо холестеролу і триацилгліцеролів, з метою поглиблення вивчення біохімічних основ атеросклерозу й ожиріння у людини. При цьому основну увагу звертають на дослідження холестериногенезу в різних органах і тканинах та їх зв'язку з атеросклерозом і ішемічним захворюванням серця [2, 8, 10, 11]. У результаті даних досліджень встановлено істотні відмінності у впливі ПНЖК родин n-3 і n-6 на холестериногенез в організмі щурів, зумовлені особливостями їх метаболізму [3, 4, 6, 7, 9]. Дію ПНЖК цих родин на інші ланки обміну речовин в організмі тварин вивчено меншою мірою, а даних про їх вплив на синтез білків у різних органах і тканинах при гіперхолестеринемії ми в літературі не виявили. У зв'язку з цим, метою нашої роботи було дослідження впливу ПНЖК на інтенсивність синтезу білків у різних органах і тканинах щурів при експериментальній гіперхолестеринемії in vitro шляхом інкубації їх зрізів з [2-¹⁴C] лізином з наступним визначенням радіоактивності синтезованих білків. Разом із тим, досліджували радіоактивність білків при інкубації зрізів тканин досліджуваних органів з [6-¹⁴C] глюкозою, що дозволило судити про дію ПНЖК родин n-3 і n-6 на інтен-

сивність синтезу амінокислот і їх використання в синтезі білків.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослід проведено на 5-ти групах білих безпородних щурів-самців живою масою 180-200 г (по 6 тварин у групі). Тварини кожної групи утримувались в окремій клітці й одержували основний раціон, який забезпечував їх потребу в головних елементах живлення згідно з нормою. Щури 1-ї групи становили контроль. До основного раціону тваринам 2-5 груп додавали холестерин у кількості 60-70 мг на щура на добу з метою викликання в них гіперхолестеринемії [1]. При цьому до раціону тварин 3-ї групи додавали соняшникову олію (1 мл на щура на добу) як джерело лінолевої кислоти (n-6 ПНЖК); тваринам 4-ї групи – риб'ячий жир (1 мл на щура на добу), як джерело ейкозопентаєнової і докозогексаєнової жирних кислот (n-3 ПНЖК); тваринам 5-ї групи – соняшникову олію і риб'ячий жир у вказаних дозах. Щури одержували дані раціони протягом 7-ми тижнів. Після цього проводили декапітацію тварин під ефірним наркозом. Матеріалом для досліджень були: головний мозок, печінка, тонка кишка, жирова тканина. Гомогенати вказаних тканин у фосфатному буфері Кребса-Рінгера (відношення маси тканини до об'єму буфера – 1:10, рН – 7,4) переносили в інкубаційні посудини, додавали 1 мкКюрі [2-¹⁴C] лізину або [6-¹⁴C] глюкози й інкубували протягом 60 хв при

© О.С. Покотило, Л.С. Фіра – д.біол.н., І.М. Кліщ – д.мед.н., 2004.

температурі 37 °С, постійно помішуючи (газове середовище – повітря). Після екстрагування ліпідів із гомогенату визначали радіоактивність синтезованих білків на рідинному сцинтиляційному лічильнику "LKB" (Швеція) [5].

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

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

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

Вплив на інтенсивність синтезу білків у головному мозку, печінці й слизовій оболонці кишки щурів при одночасному підвищенні в раціоні рівня лінолевої, докозогексаєнової та ейкозопентаєнової кислот близький до дії останніх, тобто ПНЖК родини n-3, що свідчить

про їх домінуючий вплив на синтез білків у тканинах тварин при споживанні їх разом із ПНЖК родини n-6.

Загалом одержані результати свідчать про вплив ПНЖК не тільки на синтез ліпідів, а і на синтез білків у тканинах тварин, про відмінності у впливі ПНЖК родин n-3 і n-6 на синтез білків та його органно-тканинну специфіку.

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

Ступінь застосування ендогенних амінокислот у синтезі білків у головному мозку і печінці білих щурів при експериментальній гіперхолестеринемії приблизно у 2 рази вищий ($p < 0,001$), а в слизовій оболонці – нижчий ($p < 0,001$) порівняно з їх використанням у цих тканинах тварин контрольної групи.

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

Радіоактивність білків при інкубації головного мозку, печінки і слизової оболонки тонкої кишки щурів 5-ї групи, до раціону яких додавали соняшкову олію і риб'ячий жир, займає проміжне положення між радіоактивністю білків

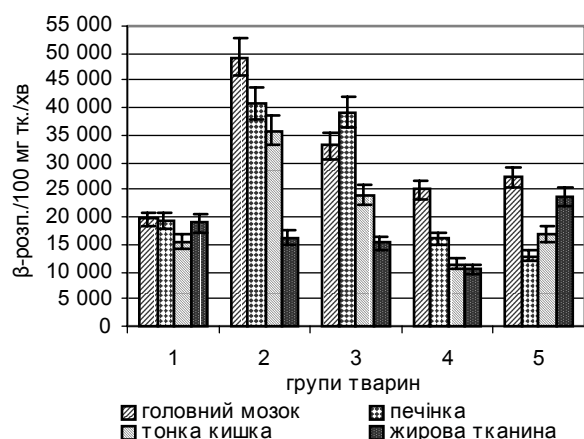


Рис. 1. Радіоактивність білків (β -розп./100 мг сирої тк./хв), синтезованих зрізами досліджуваних органів і тканин щурів при інкубації з $[2-^{14}\text{C}]$ лізином (n-6).

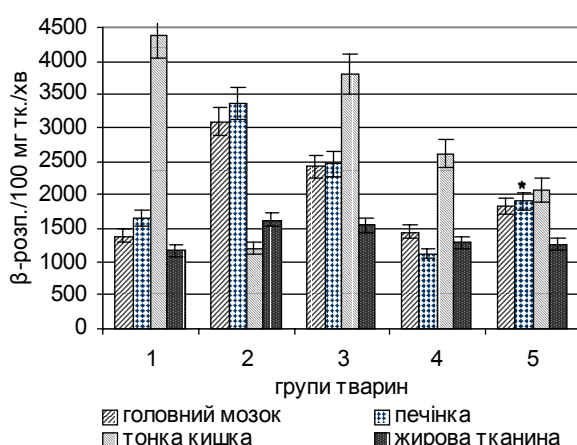


Рис. 2. Радіоактивність білків (β -розп./100 мг сирої тк./хв), синтезованих зрізами досліджуваних органів і тканин щурів при інкубації з $[6-^{14}\text{C}]$ глюкозою (n-6).

у цих тканинах тварин 3-ї і 4-ї груп, до раціону яких додавали, відповідно, соняшникову олію і рибацький жир, що свідчить про домінуючий вплив ейкозопентаєнової і докозогексаєнової кислот на синтез білків.

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

2. Інтенсивність синтезу білків *in vitro* у вказаних органах білих щурів з експерименталь-

ною гіперхолестеринемією при додаванні до раціону рибацького жиру окремо або із соняшниковою олією знижується більшою мірою, ніж при додаванні соняшникової олії окремо.

3. Крім екзогенних амінокислот, у синтезі білків у вказаних органах і тканинах щурів *in vitro* використовуються також ендogenous амінокислоти, що утворюються *de novo* з вуглецевого скелета [6-¹⁴C] глюкози.

4. Відмінності у ступені використання амінокислот, синтезованих *de novo* з вуглецевого скелета [6-¹⁴C] глюкози, у синтезі білків у тканинах щурів з гіперхолестеринемією і при додаванні до раціону соняшникової олії та рибацького жиру подібні до застосування [2-¹⁴C] лізину.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гончарова Н.А., Малая Л.Т., Бобров В.А. и др. Методические рекомендации по изучению гипополипидемических и противоатеросклеротических средств. – К.: Фармакологический комитет МЗ Украины, 1996. – 28 с.

2. Губский Ю.И., Левицкий Е.Л., Примаков Р.Т. Конформационные характеристики и нативности эндогенных липидов фракций транскрипционно активного и репрессованного хроматина // Укр. біохім. журн. – 1994. – **63**, № 2. – С. 83-89.

3. Покотило О.С. Вплив рибацького жиру і соняшникової олії при додаванні їх до раціону щурів з експериментальною гіперхолестеринемією на вміст холестерину і триацилгліцеролів у плазмі крові // Біологія тварин. – 2003, – **5**, № 1-2. – С. 118-121.

4. Покотило О.С., Козак Д.В. Жиринокислотний склад ліпідів крові щурів при гіперхолестеринемії і його корекція ω-3 і ω-6 поліненасиченими жирними кислотами // Здобутки клініч. і експерим. медицини. – 2003. – № 2. – С. 40-44.

5. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований. – Л.: Изд-во ЛГУ. – 1982. – 222 с.

6. Davis H.R., Bridenstine R.T., Vesselinovitch D.

et al. Fish oil inhibits development of atherosclerosis in rhesus monkeys // *Arteriosclerosis*. – 1987. – **7**. – P. 441-449.

7. Hrelia S.L., Jimenez B., Bordoni A. et al. Essential fatty acid metabolism in cultured rat cardiomyocytes in response to either N-6 or N-3 fatty acid supplementation // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1995. – **216**, № 1. – P. 9-11.

8. Kogteva G.S., Bezuglov V.V. Unsaturated Fatty Acids as Endogenous Bioregulators // *Biochemistry*. – Moscow. – 1998. – **63**, № 1. – P. 6-15.

9. Laidlaw M., Holub B.J. Effects of supplementation with fish oil-derived n-3 fatty acids and linolenic acid on circulating plasma lipids and fatty acid profiles in women 1,2,3 // *Amer. J. Clin. Nutr.* – 2003. – **77**, № 1. – P. 37-42.

10. Renaud S. Cardiovascular Diseases and Nutrition // *JNHA*. – 2001. – **5**, № 3. – P. 823-827.

11. Rubin D., Laposata M. Cellular interactions between n-6 and n-3 fatty acids: a mass analysis of fatty acid elongation/desaturation, distribution among complex lipids, and conversion to eicosanoids // *J. Lipid Res.* – 1992. – **33**. – P. 1431-1440.

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

О.С. Покотило, Л.С. Фира, И.Н. Клиш

ТЕРНОПОЛЬСЬКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Резюме

На модели экспериментальной гиперхолестеринемии изучено *in vitro* степень использования [2-¹⁴C] лизина и [6-¹⁴C] глюкозы в синтезе белков в органах и тканях белых крыс при разном соотношении

между n-3 и n-6 жирными кислотами в их рационе. Повышенная при гиперхолестеринемии интенсивность синтеза белков из [2-¹⁴C] лизина в головном мозге, печени и слизистой оболочке тонкой кишки в большей степени снижается при добавлении в рацион рыбьего жира, нежели подсолнечного масла.

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

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

O.S. Pokotylo, L.S. Fira, I.M. Klisch
TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

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

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

Отримано 14.04.2004 р.

Адреса для листування: О.С. Покотило, Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

ВИДАВНИЦТВО “УКРМЕДКНИГА”

Передплатні видання Тернопільського державного медичного університету 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 Воли, 1, м.Тернопіль, 46001
тел./факс (0352) 22-80-09; тел. 22-97-29

ЗМІНИ АКТИВНОСТІ АТФАЗИ ТА ОПТИЧНОЇ ГУСТИНИ У МІТОХОНДРІЯХ ТКАНИН ПЕЧІНКИ ТА СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ТОНКОЇ КИШКИ ПРИ РОЗВИТКУ АДАПТАЦІЙНОГО СИНДРОМУ

О.І. Терлецька, О.Я. Чупашко, Ю.С. Петришин, С.М. Ковальчук
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

Досліджували зміни активності H^+ -АТФази, вмісту ліпідів, ліпопротеїнів і оптичної щільності мітохондрій тканин печінки і слизової оболонки тонкої кишки при розвитку адаптаційного синдрому, змодельованого введенням адреналіну. Встановлено тканинну специфіку динаміки змін досліджуваних показників.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: АТФаза, оптична густина, мітохондрії, печінка, слизова оболонка тонкої кишки, адреналін.

ВСТУП. Загальновідомо, що в енергетичному обміні особливе значення має мітохондріальна H^+ -АТФаза, яка при переважанні катаболічних процесів активує гідроліз АТФ, а при анаболічних трансформується як АТФ-синтетаза [1]. АТФ/АДФ-антипортер відіграє також ключову роль у мітоптозі, оскільки за відповідних умов може перетворюватися на неспецифічну мітохондріальну пору, індукуючи апоптичні чи некротичні процеси [7]. Вивченню динаміки активності H^+ -АТФази як генератора енергетичного потенціалу, а також залежності її показників від стану ліпопротеїнових структур присвячена достатня кількість наукових досліджень, проте на сьогодні маловивченими є залежність процесу стабілізації мембран мітохондрій від активності H^+ -АТФази, роль цього ферменту у визначенні фону ранніх мобілізаційних відновних процесів. Це і зумовило основну мету нашого дослідження – вивчити характер змін активності АТФази у мітохондріях тканин органів травної системи (печінки та слизової оболонки тонкої кишки – СОТК), що відрізняються типом метаболізму та рівнем енергетичного забезпечення, при розвитку адаптаційного синдрому, модельованого введенням адреналіну.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження активності H^+ -АТФаз у мітохондріях тканини

© О.І. Терлецька, О.Я. Чупашко, Ю.С. Петришин, С.М. Ковальчук, 2004.

печінки та СОТК проводили впродовж 6 год після введення адреналіну статевозрілим доморощеним щурам-самцям масою 180-230 г. Адаптаційний синдром викликали доочеревинним введенням адреналіну у фізіологічній дозі (1 мкг на 100 г маси). Декапітацію тварин проводили через 10 хв, 1, 3 та 6 год після введення адреналіну. Терміни та дозу обрано з метою прослідкувати перебіг ранніх зворотних мобілізаційних стадій пристосувальних реакцій. Мітохондрії добували методом диференційного центрифугування [4]. Активність H^+ -АТФаз визначали потенціометричним методом, розробленим Чансом [2]. Вивчення характеру змін активності H^+ -АТФази проводили порівнянно зі змінами вмісту ліпідів, ліпопротеїнів та оптичної густини мітохондрій, які визначали за методами [6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз показників активності мітохондріальних H^+ -АТФаз у досліджуваних тканинах контрольної групи тварин свідчить про те, що активність даного ферменту в мітохондріях СОТК складає $(12,0 \pm 0,8)$ нмоль/хв·мг білка та є істотно нижчою порівняно з мітохондріями печінки $((61,0 \pm 3,8)$ нмоль/хв·мг білка). Це значною мірою корелює з отриманими нами раніше даними, які пов'язують нижчу адаптивну спроможність, а відповідно, і більшу уразливість СОТК до різної природи екстремальних чинників, з меншою активністю мітохондріальних

ферментів (сукцинатдегідрогенази, цитохром-оксидази), що визначають рівень окисного енергопродукуючого метаболізму відповідних органів [8]. Мітохондрії СОТК відрізняються від мітохондрій тканини печінки також вмістом ліпідних компонентів, яким належить особлива роль у підтримці енергетичного гомеостазу за різних екстремальних умов [5, 8]. Це значною мірою і визначає динаміку виявлених нами обмінних змін у відповідних органах.

Зміни H^+ -АТФазної активності мітохондрій СОТК після введення адреналіну мають такий характер. Через 10 хв після введення гормону активність H^+ -АТФази поступово зростає з максимумом значення до 3 год. У цей термін параметри H^+ -АТФазної активності у мітохондріях слизової тонкої кишки перевищують контрольні величини на 40 %. До 6 год рівень активності цього ферменту істотно зменшується, однак залишається на 28 % вищим від норми.

У дослідженнях різних авторів встановлено, що мітохондрії здатні змінювати форму, розміри, кількість та щільність крист залежно від інтенсивності енергетичного та пластичного обміну клітини [3]. За фізіологічних умов, залежно від трофіки клітини, ці зміни є зворотними і виявляють певну циклічність. Якщо ж зміни переходять критичні межі, вони стають незворотними, аж до повного розпаду структур, ініціюючи апоптичні чи некротичні перетворення. Таким чином, зміни функціонального стану мітохондрій можуть проявлятися набуханням мітохондріального матриксу, його просвітленням, що за умов нашого дослідження може проявлятися зменшенням їх оптичної густини.

Якщо прослідкувати зміни оптичної густини мітохондрій СОТК, то можна засвідчити, що до 3 год величини її прогресуюче знижуються і становлять у цей термін 62 % від вихідного рівня. У наступний досліджуваний період – через 6 год після введення адреналіну – вона практично не змінюється і складає 73 % стосовно норми. Водночас до 3 год після введення адреналіну відмічено різке зменшення вмісту ліпопротеїнів та ліпідів. Зниження оптичної густини мітохондрій є проявом розпушення мітохондріального матриксу, пов'язаного із залученням ліпідного його компонента до обмінних перетворень з метою підтримання енергетичного балансу клітини. На користь цього твердження свідчить і характер змін активності H^+ -АТФази у відповідні терміни дослідження, який вказує на мобілізацію АТФазного генератора.

У тканині печінки зміни активності АТФази та оптичної щільності мітохондрій мають свою специфіку. Впродовж 10–60 хв після введення адреналіну активність ферменту збільшується на 30 та 75 % відповідно. Оптична густина мітохондрій у ці періоди прогресуюче зменшується: через 10 хв – на 25 %, а через 1 год – на 40 % стосовно вихідного рівня.

Через 3 год після введення адреналіну H^+ -АТФазна активність та вміст ліпопротеїнів мають тенденцію до відновлення, а оптична густина мітохондрій практично повертається до контрольного рівня. Через 6 год оптична густина органел та вміст ліпопротеїнів навіть перевищують контрольні значення – на 10 та 33 % відповідно. Активність H^+ -АТФази у мітохондріях печінки у цей період дослідження є нижчою від контролю на 15 %.

Як видно із представлених даних, динаміка змін активності H^+ -АТФази та значень оптичної густини у мітохондріях досліджуваних нами тканин у ранні терміни після введення фізіологічної дози адреналіну характеризується органною специфікою. У мітохондріях печінки вона проявляється більш ранніми періодами відновлення H^+ -АТФазної активності, вмісту ліпопротеїнів та оптичної густини мітохондрій, зафіксованими після введення гормону. В мітохондріях СОТК процеси відновлення стосовно досліджуваних нами параметрів через 3 год ще не відмічались.

У більш віддалені терміни (через 6 год), коли у мітохондріях СОТК рівень відновлення структурної їх впорядкованості, судячи з величини оптичної густини мітохондрій, незначний, у мітохондріях, тканини печінки відмічається фаза суперкомпенсації. Вона проявляється збільшенням щільності мітохондріальних структур, що, згідно з даними деяких авторів, може передувати їх новоутворенню, а також зниженням активності H^+ -АТФази, яка, очевидно, трансформується у АТФ-синтазу у зв'язку із завершенням відновних синтезів.

ВИСНОВОК. Отримані результати без сумніву, свідчать про те, що дія навіть фізіологічної сили впливів супроводжується значною структурно-функціональною мобілізаційною перебудовою, яка зачіпає субклітинні енергопродукуючі системи. Якість та швидкість цих обмінних пристосувальних змін значною мірою визначаються рівнем аеробного енергозабезпечення, що проявилось тканинною специфікою стосовно динаміки змін досліджуваних параметрів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Виноградов А.Д. Fo-F1-АТФ синтетаза: нерешенные проблемы // Материалы Междунар. Конф. "Митохондрии, клетки и активные формы кислорода". – Пущино, 2000. – С. 26-27.
2. Евтодиенко Ю.В. Механизмы и регуляция транспорта ионов в митохондриях: Автореф. дисс. ... д-ра биол. Наук. – Пущино, 1979. – 43 с.
3. Кондрашова М.Н., Григоренко Е.В., Бабский А.М. Гомеостатирование физиологических функций на уровне митохондрий // Молекулярные механизмы клеточного гомеостаза. – Новосибирск: Наука, Сиб. Отдел, 1987. – С. 40-66.
4. Кондрашова М.Н., Григоренко Е.В. Защита от стресса на уровне митохондрий. – Пущино: НЦБИ АН СССР, 1981. – 15 с.
5. Лебкова Н.П. Современные представления о внутриклеточных механизмах обеспечения энергетического гомеостаза в норме и при патологии // Вестник Рос. АН. – 2000. – № 9. – С. 16-21.
6. Методы биохимических исследований / Под ред. М.И. Прохоровой. – Ленинград, 1982. – 272 с.
7. Скулачев В.П. Механизмы эшелонизированной защиты от кислорода: митоптоз, апоптоз и феноптоз // Материалы Междунар. Конф. "Митохондрии, клетки и активные формы кислорода". – Пущино, 2000. – С. 140-141.
8. Терлецкая О.И., Ковальчук С.Н., Тымочко М.Ф. Особенности метадолической регуляции компенсаторных систем с различным уровнем резистентности // Материалы Международ. конф. "Механизмы функционирования висцеральных систем". – С.Пб., 2001. – С. 359-360.

ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ АТФАЗЫ И ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ В МИТОХОНДРИЯХ ТКАНЕЙ ПЕЧЕНИ И СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ТОНКОЙ КИШКИ ПРИ РАЗВИТИИ АДАПТАЦИОННОГО СИНДРОМА

О.И. Терлецкая, О.Я. Чупашко, Ю.С. Петришин, С.Н. Ковальчук
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

Резюме

Исследовали изменения активности H^+ -АТФазы, содержания липидов, липопротеинов и оптической плотности митохондрий тканей печени и слизистой оболочки тонкой кишки при развитии адаптационного синдрома, смоделированного введением адреналина. Установлено тканевую специфику динамики изменений исследуемых показателей.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АТФаза, оптическая плотность, митохондрии, печень, слизистая оболочка тонкой кишки, адреналин.

CHANGES OF ATPASE ACTIVITY AND OPTIC DENSITY IN MITOCHONDRIAS OF LIVER AND SMALL INTESTINE MUCOSE MEMBRANE TISSUES UNDER THE CONDITIONS OF ADAPTIVE SYNDROME DEVELOPMENT

O.I. Terletska, O.Ya. Chupashko, Y.S. Petryshyn, S.M. Kovalchuk
LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY

Summary

The changes of ATPase activity, lipid and lipoprotein levels and optic density mitochondrias of liver and small intestine mucous membrane tissues were investigated under the condition of adaptive syndrome, that was modeled by introducing of adrenaline. It was established the tissue specificity of the dynamics of changes of the investigated indices.

KEY WORDS: ATPase, optic density, mitochondria, liver, small intestine mucous membrane, adrenaline.

Отримано 18.06.2004 р.

Адреса для листування: О.І. Терлецька, Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, кафедра біологічної хімії, вул. Пекарська, 69а, Львів, 79010, Україна.

ДИНАМІКА ВМІСТУ АДЕНІНОВИХ НУКЛЕОТИДІВ ЗА УМОВ ШТУЧНОГО ГІПОБІОЗУ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ

С.Д. Мельничук, В.І. Вихованець
НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, КИЇВ

Досліджували динаміку вмісту аденінових нуклеотидів у печінці щурів за умов стану штучного гіпобіозу. Відмічено, що під час входження тварин у стан гіпобіозу і перебування в ньому вміст АТФ та АМФ поступово знижується, рівень АДФ залишається без суттєвих змін. При виході щурів зі стану штучного гіпобіозу спостерігається зростання вмісту АТФ, рівні АДФ та АМФ суттєво не змінюються. Такі зміни є метаболічною адаптацією організму до процесів входження, перебування і виходу тварин зі стану штучного гіпобіозу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: штучний гіпобіоз, аденіннуклеотиди, печінка, щури, гіперкапнія, гіпотермія, гіпоксія.

ВСТУП. Біохімічні зміни при дослідженні стану штучного гіпобіозу в щурів висвітлено в багатьох роботах [4, 5, 6]. Цей стан цікавий тим, що без застосування медикаментів у тварин настають адинамія та повна втрата больової чутливості, що може бути використане при проведенні складних хірургічних втручань [2]. Оскільки енергетичний метаболізм займає одне з найважливіших місць в обмінних процесах організму, визначення вмісту аденінових нуклеотидів (АТФ, АДФ та АМФ) за умов штучного гіпобіозу допоможе розширити уявлення про процеси метаболізму в організмі експериментальних щурів. Метою нашої роботи стало дослідження динаміки вмісту аденінових нуклеотидів у печінковій тканині дослідних тварин за умов штучного гіпобіозу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експериментальну модель створено на білих щурах масою 170-200 г. Тварин утримували в стандартних умовах віварію.

Стану штучного гіпобіозу було досягнуто за допомогою герметично закритої камери в умовах поступового підвищення вмісту CO_2 та поступового зниження рівня O_2 в середовищі перебування при навколишній температурі 2-4 °C [4].

Було створено такі умови досліду: 1,5-годинне входження щурів у стан штучного гіпо-

© С.Д. Мельничук – к.біол.н., В.І. Вихованець, 2004.

біозу; 3-годинне перебування тварин у камері з настанням стану гіпобіозу; 3 і 24 години самостійного виходу тварин зі стану штучного гіпобіозу при кімнатній температурі. За таких умов експерименту щурів декапітували з наступним відбором проб печінкової тканини. Контролем були інтактні тварини.

У печінці визначали вміст аденінових нуклеотидів, використовуючи методику І.В. Зарубіної та Б.І. Криворучко [1].

Цифровий матеріал дослідження оброблено статистично.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. На рисунку 1 показано характерне розділення аденінових нуклеотидів методом тонкошарової хроматографії на платівці: 1 – "свідки" АТФ, АДФ та АМФ; 2-5 – дослідні зразки, екстраговані з печінкової тканини щурів.

На рисунку 2 показано динаміку зміни вмісту аденінових нуклеотидів, отриману в кількісному вигляді. При цьому спостерігаємо, що під час входження щурів у стан гіпобіозу через 1,5 год настає достовірне зменшення вмісту АТФ на 25 %, рівні АДФ та АМФ мають тенденцію до зниження порівняно з відповідними даними у контрольних тварин. При настанні стану гіпобіозу вміст АТФ та АМФ значно знизився: на 29 та 42 % відповідно. Стан гіпобіозу щурам не притаманний, але зміни, що відбуваються в їх організмі, є метаболічною

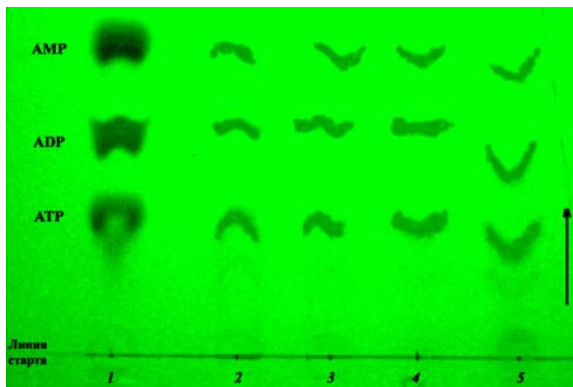


Рис. 1. Фотовідбиток хроматограми розділення нуклеотидів на платівці: 1 – "свідки" АТФ, АДФ, АМФ; 2-5 – розділення нейтральних екстрактів із печінки щурів (АТФ, АДФ, АМФ). Стрілкою вказано напрямок руху розчинника.

адаптацією [3], що дозволяє підтримувати адекватний стан тканини у гіпобіозі.

Під час виходу тварин зі стану штучного гіпобіозу через 3 год. мають місце достовірне підвищення рівня АТФ на 27 %, тенденція до збільшення вмісту АДФ, АМФ. Через добу після початку виходу тварин зі стану штучного гіпобіозу можна спостерігати ще досить підвищений рівень АТФ на 22 %, вміст АДФ та АМФ практично не відрізняється від контрольних величин. Повернення щурів до нормальної життєдіяльності та підвищення рівня обмінних процесів після дії створених факторів гіпотермії, гіперкапнії та поступового зниження вмісту кисню в середовищі показує добре пристосування тварин до змінених умов.

ЛІТЕРАТУРА

1. Зарубина І.В., Криворучко Б.І. Разделение и прямое количественное определение адениннуклеотидов на силуфоле // Укр. биохим. журн. – 1982. – **54**, № 4. – С. 437-439.
2. Мельничук С.Д., Вихованець В.І. Особливості енергетичного обміну в стані гіпобіозу у гомойотермних тварин // Матеріали ІІ наукової конференції професорсько-викладацького складу і аспірантів ННІ ВМЯБП АПК: Тези доп. – Київ, 2003. – С. 99-100.
3. Мельничук Д.О., Мельничук С.Д., Петренко О.Ф. Можливості остеосинтезу трубчастих кісток та ампутації кінцівок у щурів за умов штучного

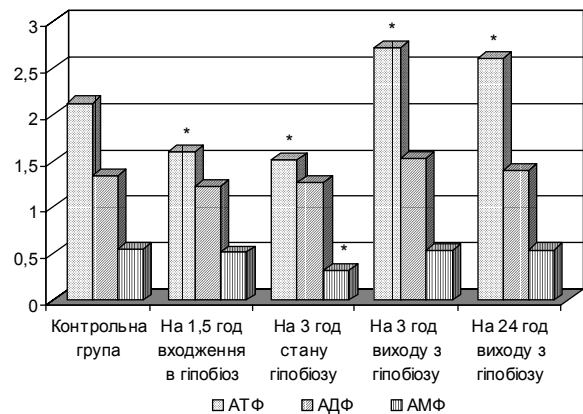


Рис. 2. Динаміка вмісту адениннуклеотидів у печінці щурів у стані штучного гіпобіозу та при виході з нього, мкмоль/г тканини, (M+m, n=5). * – P ≤ 0,05.

ВИСНОВКИ. Під час входження щурів у стан штучного гіпобіозу і перебування настає поступове зниження вмісту АТФ та АМФ, рівень АДФ залишається без суттєвих змін. При виході тварин зі стану штучного гіпобіозу спостерігається зростання вмісту АТФ, рівні АДФ та АМФ суттєво не змінюються. Отже, зміни вмісту адениннуклеотидів, які відбуваються внаслідок входження, перебування і виходу тварин зі стану штучного гіпобіозу, є метаболічною адаптацією до змінених умов середовища. Враховуючи вищесказане і підтримуючи думку попередніх досліджень [2], пропонуємо використовувати штучний гіпобіоз як один з раціональних методів знеболювання.

гіпобіозу // Вісник аграрної науки. – 2001. – № 8. – С. 32-33.

4. Мельничук Д.О., Михайловський В.О., Мельничук С.Д. Механізми метаболічної адаптації // Укр. биохим. журн. – 2000. – **72**, № 4-5. – С. 70-80.

5. Мельничук С.Д., Роговський С.П., Мельничук Д.О. Особливості кислотно-лужної рівноваги та азотого обміну в організмі щурів за умов штучного гіпобіозу // Укр. биохим. журн. – 1995. – **67**, № 4. – С. 67-75.

6. Тимофеев Н.Н. Искусственный гипобиоз. – М., 1983. – 192 с.

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ АДЕНИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ В УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННОГО ГИПОБИОЗА В ПЕЧЕНИ КРЫС

С.Д. Мельничук, В.И. Выхованец
НАЦИОНАЛЬНЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ, КИЕВ

Резюме

Исследовали динамику содержания адениновых нуклеотидов в печени крыс в условиях состояния искусственного гипобиоза. Отмечено, что во время входа животных в состояние гипобиоза и пребывания в нём содержание АТФ и АМФ постепенно снижается, уровень АДФ остаётся без существенных изменений. При выходе крыс из состояния искусственного гипобиоза наблюдается возрастание содержания АТФ, уровни АДФ та АМФ существенно изменяются. Такие изменения являются метаболической адаптацией организма к процессам входа, пребывания и выхода животных из состояния искусственного гипобиоза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: искусственный гипобиоз, адениннуклеотиды, печень, крысы, гиперкапния, гипотермия, гипоксия.

DYNAMICS OF CONTENT OF THE ADENINNUCLEOTIDES UNDER CONDITIONS OF ARTIFICIAL HYPOBIOSIS IN LIVER OF RATS

S.D. Melnychuk, V.I. Vykhovanets
NATIONAL AGRARIAN UNIVERSITY, KIEV

Summary

In this work was determined the dynamik of content of the adeninnucleotides under conditions of artificial hypobiosis in liver of rats. It is noted, that the content of ATP and AMP is gradually reduced at the time, when the rats come into the conditions of hypobiosis. The content of ADP practical is not false. It was revealed, that the content of ATP is raised at the time, when the rats come out the condition of artificial hypobiosis. The content of ADP and AMP practical is not false. Similar changes are metabolia adaptation of organism in the proceses on coming into fnd coming out the condition of artificial hypobiosis.

KEY WORDS: artificial hypobiosis, adeninnucleotides, liver, rats, hypercapnia, hypothermia, hypoxia.

Отримано 14.04.2004 р.

Адреса для листування: В.І. Вихованець, вул. Ів. Пулюя, 5б, кв. 88, Київ-48., Україна.

Для отримання оперативної інформації звертайтеся
до нашої сторінки в Інтернеті:
www.tdmu.edu.te.ua

БІОЛОГІЧНИЙ МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ АЦЕТИЛХОЛІНУ В МІОКАРДІ ЩУРІВ

В.В. Файфура, Л.М. Сас, Н.Я. Потіха, С.В. Дзига

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

У статті описано біологічний метод визначення вмісту ацетилхоліну (АХ) в міокарді щурів на прямому м'язі живота жаби. У традиційному варіанті метод передбачає використання ацетону з метою підвищення чутливості м'язового препарату до АХ. Авторами розроблено і запропоновано новий спосіб підвищення чутливості м'яза за допомогою фармакологічного препарату "Цисап", що робить дослідження більш точним та інформативним.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ацетилхолін, серце.

ВСТУП. Вивчення хімічної природи і механізмів передачі нервового збудження залишається одним з головних завдань сучасної біології. Надзвичайно важлива роль у передачі нервового збудження належить нейротрансмітеру АХ. Визначення його вмісту, інтенсивності синтезу і гідролізу, а також з'ясування механізмів взаємодії із специфічними постсинаптичними структурами стали предметом найрізноманітніших досліджень у галузі теоретичної і практичної медицини [1, 2, 4, 5].

Мета роботи – вдосконалити метод визначення вмісту АХ у міокарді щурів шляхом підвищення чутливості ізольованого м'яза до дії медіатора.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Нижче описано біологічний метод визначення вмісту АХ у передсердях і шлуночках серця щурів на прямому м'язі живота жаби. В основу покладено модифікацію J. Vlk a. S. Tusek [6] з деякими технічними змінами і доповненнями, запозиченими з інших наукових джерел, а також з урахуванням власного досвіду використання даного методу в експериментальній практиці.

Тварин умертвляють шляхом швидкої декапітації, розкривають грудну порожнину, забирають серце, яке ще б'ється, і переносять його у чашку Петрі з охолодженим розчином Рінгер-езерину (NaCl – 6,5 г; CaCl₂ 10 % –

1,2 мл; KCl 10 % – 1,4 мл; NaHCO₃ 5 % – 4 мл; езерин саліциловокислий – 10 мг; вода – до 1 л). У даному розчині серце відмивають від крові й відокремлюють передсердя від шлуночків. Після цього тканину подрібнюють ножицями, висушують на фільтрувальному папері й зважують на торзійній вазі.

У фарфорові ступки наливають розчин Рінгер-НСІ-езерину (1 л безбікарбонатного розчину Рінгера; 2 мл 1н розчину соляної кислоти; 10 мг езерину; рН – близько 3,0) в кількості 1 мл для передсердь і 3 мл для шлуночків та насипають скляний пісок. Зважену тканину передсердь і шлуночків переносять у попередньо підготовлені ступки з розчином, розтирають до однорідної маси й переливають у центрифужні пробірки. Ступки додатково ополіскують розчином Рінгер-НСІ-езерину, який зливають у центрифужні пробірки. Виходять з такого розрахунку, щоб сумарний об'єм розчину Рінгер-НСІ-езерину, враховуючи попередньо налитий, складав 0,4 мл на 10 мг передсердь і 1 мл на 100 мг шлуночків.

Приготовлені екстракти кип'ятять на водяній бані 5 хв, охолоджують та витримують при кімнатній температурі 2 год. Після цього пробірки з екстрактами врівноважують і центрифугують протягом 20 хв при 1500 об/хв. Центрифугати можна тестувати відразу ж після приготування або зберігати в холодильнику до наступного дня. Безпосередньо перед дослідом екстракти розводять Рінгер-фосфатним

© В.В. Файфура – д.мед.н., проф., Л.М. Сас, Н.Я. Потіха, С.В. Дзига, 2004.

буфером: передсердя – у 5 разів, шлуночки – в 10 разів.

Для тестування (рис. 1) відокремлюють прямий м'яз (1) тварини і занурюють його в інкубаційну камеру (2), куди почергово, користуючись канюлею (3), доливають стандартні розчини АХ певних концентрацій. Забезпечення ізолюваного м'яза киснем здійснюють від додаткового джерела через повітропровідну трубку (4). Чутливість препарату до розчинів АХ визначають за висотою підйому рівня пера (5) на кімографі (6). До уваги треба брати висоту підйому 0,5 мм і більше.

Стандартні розчини АХ хлориду готують на Рінгер-фосфатному розчині такого складу: 9 частин розчину Рінгера і 1 частина фосфатно-буферної суміші ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ М/15: $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ М/15=1:4).

Якщо препарат дає стабільну реакцію на концентрацію АХ 10^{-8} ммоль/л, то він вважається придатним для тестування екстрактів. З метою підвищення чутливості препарату використовують 0,2 % ацетон [7], який додають до розчину відразу ж після АХ.

Недоліками цього способу є недостатньо висока чутливість ізолюваного м'яза до АХ та неспецифічний характер впливу ацетону, а також залежність кінцевого результату від вмісту в ацетоні побічних домішок, що знижує точність дослідження. З метою підвищення ефективності досліджень ми використали новий метод збільшення чутливості ізолюваного м'яза до АХ шляхом попереднього введення жабам фармакологічного препарату "цисапу", активним компонентом якого є се-

лєктивний холіноміметик цисаприту моногідрат [3]. Було взято до уваги те, що, відповідно до закону денервації Кеннона, м'язи, позбавлені ендogenousного холінергічного впливу, реагують на зовнішній АХ сильніше, ніж у нормі. Препарат "цисап" стимулює виділення АХ з нервових закінчень, що призводить до зменшення депо медіатора в синапсосомах і зниження концентрації АХ у зоні контакту з холінорецепторами. Виснаження синапсосом і зменшення робочої концентрації медіатора зумовлюють підвищення чутливості холінорецепторів до АХ.

Цисап вводили жабам внутрішньом'язово з розрахунку 80 мг цисаприту моногідрату на 1 кг маси тварини один раз на добу впродовж 3 днів перед виділенням м'яза з тіла.

Результати дослідження чутливості ізолюваних нативних м'язів живота жаби до АХ наведено в таблиці 1 (контролем служили проби з використанням лише ацетону).

З таблиці видно, що після застосування цисапу чутливість м'яза до АХ збільшилася: скорочення м'яза спостерігалися при концентраціях медіатора, нижчих у 10-1000 разів від тієї концентрації, на яку реагував найчутливіший препарат з використанням лише ацетону ($1 \cdot 10^{-10}$ ммоль/л).

Таким чином, запропонований нами спосіб підвищення чутливості ізолюваного нативного м'яза до АХ дозволяє визначати вміст медіатора навіть при дуже низьких його концентраціях, що важливо при роботі з дрібними тваринами і при дослідженні малих за масою органів.

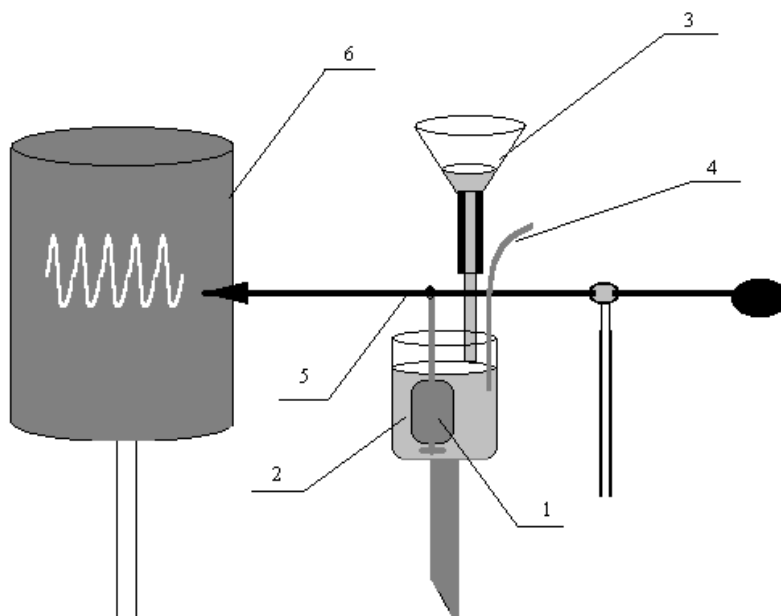


Рис. 1. Схема установки для визначення вмісту АХ.

Таблиця 1 – Чутливість м'яза живота жаби до стандартних концентрацій АХ

Контроль (ацетон)		Цисап + ацетон	
№ проби	Мінімальна концентрація АХ, на яку реагував препарат, ммоль/л	№ проби	Мінімальна концентрація АХ, на яку реагував препарат, ммоль/л
1	1·10 ⁻⁸	1	1·10 ⁻¹¹
2	1·10 ⁻⁹	2	1·10 ⁻¹¹
3	1·10 ⁻⁹	3	1·10 ⁻¹¹
4	1·10 ⁻⁹	4	1·10 ⁻¹¹
5	1·10 ⁻¹⁰	5	1·10 ⁻¹²
6	1·10 ⁻⁸	6	1·10 ⁻¹¹
7	1·10 ⁻⁹	7	1·10 ⁻¹¹
8	1·10 ⁻¹⁰	8	1·10 ⁻¹¹
9	1·10 ⁻⁹	9	1·10 ⁻¹⁰
10	1·10 ⁻⁹	10	1·10 ⁻¹²
11	1·10 ⁻⁹	11	1·10 ⁻¹³
12	1·10 ⁻⁹	12	1·10 ⁻¹¹

Дослідження екстрактів на вміст АХ проводять, як і тестування на чутливість до стандартних розчинів. Якщо висота контрактури випадає між двома близькими стандартними дозами АХ, то проба вважається закінченою. Концентрацію АХ у тканинах визначають шляхом побудови графіка і розраховують у мікро-

молях на 1 кг свіжої тканини передсердь чи шлуночків. Результати дослідів представлено в таблиці 2.

Результати визначення вмісту АХ у міокарді з поєднаним використанням ацетону і цисапу цілком збігаються з даними, отриманими при застосуванні самого ацетону.

Таблиця 2 – Вміст АХ у міокарді щурів (мкмоль/кг), визначений у дослідях з використанням ацетону і поєднання цисапу та ацетону

№ проби	Статевонезрілі щури				Дорослі щури			
	Ацетон		Цисап+ацетон		Ацетон		Цисап+ацетон	
	П	Ш	П	Ш	П	Ш	П	Ш
1	10,52	6,77	12,00	3,34	22,02	7,71	33,03	2,75
2	6,88	4,98	7,65	6,35	15,96	3,30	50,63	5,50
3	10,77	4,54	5,56	3,27	17,06	7,71	22,06	7,71
4	9,07	3,69	10,20	5,38	29,72	6,33	39,63	12,10
5	11,32	2,98	6,76	5,11	30,27	8,26	44,04	11,01
6	8,60	5,67	8,04	3,68	50,64	11,28	22,06	5,50
7	3,96	2,56	12,35	5,85	39,91	2,75	37,43	11,01
8	6,85	3,91	11,00	4,66	44,04	10,18	28,62	3,85
9	10,01	5,31	9,76	5,22	22,02	–	26,42	13,76
10	11,11	5,61	5,88	4,69	22,02	5,50	33,03	14,86
11	8,07	1,93	7,35	4,33	27,52	11,01	–	–
M±m	8,83±0,68	4,47±0,41	8,77±0,77	4,71±0,32	29,16±3,41	7,40±0,84	33,69±2,96	8,81±1,36
p			>0,5	>0,5			>0,25	>0,25

Примітка. П – передсердя, Ш – шлуночки.

ВИСНОВКИ. 1. Наведено точний і специфічний метод визначення вмісту АХ у міокарді тварин.

2. Відомий спосіб вдосконалено шляхом

використання з метою підвищення чутливості ізолюваного м'яза до АХ фармакологічного препарату "Цисап", що робить дослідження більш ефективним та інформативним.

ЛІТЕРАТУРА

1. Абзалов Р.А., Нигматуллина Р.Р., Хураштин И.Г. Содержание ацетилхолина и активность холинэстераз в тканях у крыс, развивающихся в

условиях различных двигательных режимов // Булл. эксперим. биол. и мед. – 1997. – **124**, № 12. – С. 625-628.

2. Алипов Н.Н. Пейсмекерные клетки сердца: электрическая активность и влияние вегетативных нейромедиаторов // Усп. физиол. наук. – 1993. – **24**, № 2. – С. 37-70.

3. Деклараци́нный патент на винахід № 65837А, Україна, 7G09B23/28. Спосіб підвищення чутливості ізольованого нативного м'яза до ацетилхоліну / В.В. Файфура, Л.М. Сас. – № 2003065246. – Опубл. 15.04.2004. – Бюл. № 4. – 3 с.

4. Потіха Н.Я. Вміст ацетилхоліну в міокарді статевонезрілих щурів з експериментальним гіпоти-

реозом // Мед. хімія. – 2004. – **6**, № 1. – С. 96-99.

5. Сас Л.М. Зміни холінергічної регуляції серця при експериментальному тироксिनному токсикозі та їх корекція: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Тернопіль, 2004. – 20 с.

6. Vlk J., Tucek S. Distribution of acetylcholine in the auricles of the mammalian heart // Physiol. bohemoslov. – 1961. – **10**, № 1. – P. 65-71.

7. Zeleny A., Kozak J. Action of acetone on the tonic muscle of the frog // Nature. – 1958. – **181**, № 4619. – P. 1340-1341.

БИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ АЦЕТИЛХОЛИНА В МИОКАРДЕ КРЫС

В.В. Файфура, Л.М. Сас, Н.Я. Потиха, С.В. Дзыга

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

В статье описан биологический метод определения содержания ацетилхолина (АХ) в миокарде крыс на прямой мышце живота лягушки. В традиционном варианте метод предусматривает использование ацетона с целью повышения чувствительности мышечного препарата к АХ. Авторами разработан и предложен новый способ повышения чувствительности мышцы с помощью фармакологического препарата "Цисап", что делает исследование более точным и информативным.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **ацетилхолин, сердце.**

BIOLOGICAL METHOD OF ACETYLCHOLINE CONTENT DETERMINATION IN RAT MYOCARDIUM

V.V. Faifura, L.M. Sas, N.Ya. Potikha, S.V. Dzyga

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The article describes the biological method of acetylcholine (ACh) content determination in rat myocardium on the isolated m. rectus abdominis of the frog. In traditional variant this method forecasts the acetone application in order to increase the muscle sensibility to ACh. The authors elaborated and proposed the new method of the muscle sensibility increase by means of pharmacological remedy "Cisap", which makes the investigation more accurate and informative.

KEY WORDS: **acetylcholine, heart.**

Отримано 28.09.2004 р.

Адреса для листування: В.В. Файфура, Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ МЕТИЛСАЛІЦИЛАТУ В ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ

С.О. Васюк, О.О. Тарханова, В.В. Петренко
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Запропоновано спектрофотометричний спосіб кількісного визначення метилсаліцилату в субстанції та готових лікарських формах, в основі якого лежить реакція взаємодії препарату з діазолем червоним 2Ж. Спосіб характеризується високою чутливістю, точністю та простотою виконання.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: метилсаліцилат, спектрофотометрія, діазоль червоний 2Ж.

ВСТУП. Метилсаліцилат застосовують у медичній практиці зовнішньо як знеболювальний та протизапальний засіб [5]. Згідно з аналітичною нормативною документацією, вміст даного препарату в субстанції визначають шляхом титрування розчином хлорид-водневої кислоти після омилення [6, 7], а в лікарських формах – за допомогою газової хроматографії [3, 4]. У літературі описано кількісне визначення метилсаліцилату методом газової хроматографії з застосуванням внутрішнього стандарту, запропоновано також екстракційно-фотометричне визначення, яке полягає в екстрагуванні сумішшю нітробензолу та н-бутилацетату, реекстракції розчином гідроксиду натрію, обробці діазотованою сульфаніловою кислотою при рН близько 7 та вимірюванні оптичної густини [1]. Інших методів кількісного визначення препарату в літературі за останні роки нами не виявлено.

Метою нашої роботи було вивчити умови проведення реакції метилсаліцилату з п-нітродіазобензолу борфторидом (діазолем червоним 2Ж) та розробити на цій основі методу його кількісного визначення в лікарських формах.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі використовували реактиви та розчинники, що відповідали вимогам АНД: діазоль червоний 2Ж (ТУ 6-09-07-50) кваліфікації чда, воду дистильовану (Державна Фармакопея України, 1095504), карбонат натрію (Державна Фармакопея України, 1079200), етанол 96 % (Державна Фармакопея України, 1034800) [6].

Експериментально нами було встановлено, що метилсаліцилат реагує з діазолем червоним

© С.О. Васюк – к.фарм.н., О.О. Тарханова, В.В. Петренко – д.фарм.н., проф., 2004.

2Ж при кімнатній температурі у водно-етанольному середовищі при додаванні 1 % розчину карбонату натрію з утворенням продукту реакції оранжево-червоного кольору з максимумом світлопоглинання при довжині хвилі 480 нм (рис. 1).

Відкривальний мінімум для препарату, розрахований за загальновідомою методикою [2], становив 0,40 мкг/мл.

Підпорядкування закону світлопоглинання перебувало в межах концентрації метилсаліцилату 0,2-0,6 мг/100 мл.

Розрахунок відсоткового вмісту препарату для субстанції та вмісту в грамах у 1 г готової лікарської форми проводили методом стандарту, використовуючи розчин метилсаліцилату, субстанція якого відповідає вимогам АНД [6].

Методика кількісного визначення метилсаліцилату в субстанції. Точну наважку метилсаліцилату в межах 0,0125-0,0375 г вміщують у мірну колбу ємністю 250 мл, доводять до мітки етанолом, ретельно перемішують. 1 мл одержаного розчину поміщають у мірну колбу на 25 мл, додають 6 мл свіжовиготовленого насиченого (близько 0,1 %) розчину діазолу червоного 2Ж, 0,5 мл 1 % розчину карбонату натрію, 10 мл 96 % етанолу, витримують 5 хв та доводять водою до позначки. Паралельно проводять пробу з 1 мл стандартного розчину метилсаліцилату (0,0113 г у 100 мл) і розчином-фоном, що не містить речовини, яка визначається.

Оптичну густину досліджуваного і стандартного розчинів вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 480 нм у кюветі з товщиною оптичного шару 1 см, використовуючи для порівняння розчин, що не містив речовини, яку визначали.

Розрахунок відсоткового вмісту метилсаліцилату проводять за формулою:

$$C_{\%} = \frac{A \cdot C_0 \cdot 250 \cdot 25}{A_0 \cdot p \cdot l},$$

де А – оптична густина досліджуваного розчину;

A_0 – оптична густина стандартного розчину;

C_0 – концентрація стандартного спектрофотометричного розчину (0,000452 г у 100 мл);

p – наважка, г;

l – товщина шару, см.

Результати кількісного визначення метилсаліцилату в субстанції наведено в таблиці 1.

Методика кількісного визначення метилсаліцилату в м'яких лікарських формах. Точну наважку мазі (табл. 2) вміщують у склянку на 50 мл, додають 10 мл етанолу та нагрівають на водяній бані до повного розчинення мазі, потім охолоджують, декантують у мірну колбу ємністю 50 мл. Операцію повторюють ще два рази. Вміст колби доводять до позначки етанолом, ретельно перемішують, при необхідності фільтрують, перші порції фільтрату відкидають, а з наступних бе-

руть 1 мл, вміщують у колбу місткістю 25 мл і далі роблять, як у методиці "Кількісне визначення метилсаліцилату в субстанції", починаючи зі слів: "додають 6 мл свіжовиготовленого...". Визначення вмісту метилсаліцилату в 1 г мазі проводять за формулою:

$$\% = \frac{A \cdot C_0 \cdot 50 \cdot 25}{A_0 \cdot p \cdot 1 \cdot 100}$$

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати кількісного визначення метилсаліцилату в лікарських формах наведено в таблиці 2.

Як видно з даних таблиць, розроблений спосіб характеризується досить високою точністю та відтворюваністю результатів аналізу. Лікарські та допоміжні речовини, що не містять фенольного гідроксилу, не заважають визначенню. У лініменті "Зелений слон", до складу якого входять ефірні олії, у т. ч. тимол, кількісне визначення метилсаліцилату дає завищені результати.

Таблиця 1 – Результати кількісного визначення метилсаліцилату в субстанції (n=6, p=0,95)

Наважка, г	A	A_0	$C_{\%}$	Метрологічні характеристики
0,0198	0,467	0,662	100,6	$\bar{X} = 100,5$
0,0226	0,532		100,4	$S^2 = 0,09020$
0,0254	0,595		99,96	$S = 0,3003$
0,0311	0,734		100,7	$S_x = 0,1226$
0,0339	0,801		100,8	$\Delta x = 0,3151$
0,0272	0,641		100,6	

Таблиця 2 – Результати кількісного визначення метилсаліцилату в лікарських формах

Лікарська форма	Наважка, г	Метрологічні характеристики				
		\bar{X}	$S^2 \cdot 10^5$	$S \cdot 10^3$	$\bar{S}_x \cdot 10^3$	$\Delta x \cdot 10^3$
1. "Бом-Бенге" складу: ментол 3,9 % метилсаліцилат 20,2 % парафін медичний 7,0 % вазелін 68,9 % серія 05122001	0,0125-0,0375	0,201	2,65	5,14	2,10	5,40
2. "Апізартрон" складу: стандартизована бджолина отрута 3 мг метилсаліцилат 10 г алілізо-тіоціанат 1 г серія 063032	0,0250-0,0750	0,101	1,36	3,68	1,50	3,86
3. "Бен-Гей" складу: метилсаліцилат 15 % ментол 10 % серія 317/12103	0,0180-0,0570	0,154	1,49	3,86	1,58	4,05
4. "Бен-Гей спортивний" складу: метилсаліцилат 28 % ментол 10 % серія 317/12210	0,0100-0,0270	0,284	12,1	11,0	4,50	11,6
5. "Диклоран плюс 1 %" складу: диклофенаку діетіамін 11,6 мг метилсаліцилат 100 мг ментол 50 мг олія лляна 30 мг спирт бензиловий 10 мг гелева основа ск. потрібно серія BNOP 4001	0,0250-0,0750	0,101	2,72	5,22	2,13	5,48

ВИСНОВКИ. 1. Запропоновано спектрофотометричний спосіб кількісного визначення метилсаліцилату за реакцією азосполучення препарату з діазолем червоним 2Ж.

2. Показано можливість застосування опрацьованої методики для визначення метилсаліцилату в субстанції та готових лікарських формах.

3. Запропоновані методики характеризуються високою чутливістю, простотою виконання і можуть бути використані в лабораторіях Державної інспекції з контролю за якістю ліків та ВТК хіміко-фармацевтичних заводів.

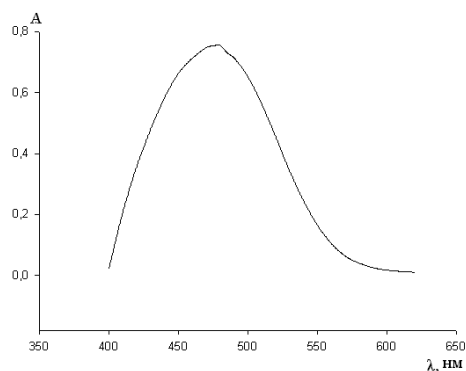


Рис. 1. Спектр поглинання продукту реакції діазолу червоного 2Ж з метилсаліцилатом.

ЛІТЕРАТУРА

1. А.с. 1456849 СССР, МКИ4 G 01 N 21/78. Способ определения салициловой кислоты и метилсалицилата в водных растворах / Я.И. Коренман, В.Н. Данилов – Опубл. 07.02.89, Бюл. № 5. – 3 с.
2. Булатов М.И., Калинин И.П. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа. – 5-е изд. – Л.: Химия, 1986. – 432 с.
3. ВФС 42У-115-771-98.
4. Державна Фармакопея України. – 1-ше вид. – Харків: PIPEГ, 2001. – 556 с.
5. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. – Харьков: Торсинг, 1998. – Т. 1. – 169 с.
6. Метилсаліцилат (субстанція). – № Р.08.01/03525.
7. British Pharmacopeia. – London, 1998. – P. 874-875, 1806.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТИЛСАЛИЦИЛАТА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ

С.А. Васюк, О.А. Тарханова, В.В. Петренко
ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Предложен спектрофотометрический способ количественного определения метилсалицилата в субстанции и готовых лекарственных формах, в основе которого лежит реакция взаимодействия препарата с диазолем красным 2Ж. Способ характеризуется высокой чувствительностью, точностью и простотой выполнения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: метилсалицилат, спектрофотометрия, диазол красный 2Ж.

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF METHYL SALICYLATE IN DRUG FORMS

S.A. Vasjuk, O.A. Tarkhanova, V.V. Petrenko
ZAPORIZHZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

The method of quantitative spectrophotometric identification of methyl salicylate in substances and in ready medical forms is worked out. This method is based on the reaction of interaction of a preparation with diasol red 2G. The method is characterized by high sensitiveness and it is easy executable.

KEY WORDS: methyl salicylate, spectrophotometry, diasol red 2G.

Отримано 07.06.2004 р.

Адреса для листування: С.О. Васюк, вул. Героїв Сталінграду, 22, кв. 57, Запоріжжя, 69095, Україна.

**СУЧАСНІ НАУКОВІ НАПРЯМКИ
СТВОРЕННЯ НЕОПІЇДНИХ ЗНЕБОЛЮВАЛЬНИХ ЗАСОБІВ**

**Т.А. Бухтіарова, З.П. Омеляненко, Л.С. Бобкова, В.П. Даниленко,
В.С. Хоменко, О.Є. Ядловський, Т.В. Шатиркіна, М.І. Голубов**
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, КИЇВ

У роботі зроблено спробу узагальнення численних даних про основні напрямки пошуку ненаркотичних анальгетиків. Показано значення фундаментальних досліджень та математичного моделювання для цілеспрямованого створення нових неопіїдних анальгетиків.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: біль, анальгезія, ненаркотичні анальгетики.

Больовий синдром у сучасній медичній практиці є однією з найважливіших клінічних проблем. Біль як реакція організму супроводжує людину впродовж усього її життя, проявляючись практично при всіх патологічних станах, він є одним із основних критеріїв стану хвороби. Крім того, біль є не тільки симптомом більшості гострих і хронічних захворювань, але і психофізіологічним феноменом, який залучає нейрорефлекторні й гуморальні механізми, тим самим посилюючи перебіг захворювання [2].

Залежно від джерела, біль може бути соматичним або вісцеральним. Виникнення гострого соматичного болю найчастіше зумовлене пошкодженнями тканин і вивільненням внутрішньоклітинних хімічних медіаторів, таких, як гістамін, брадикінін, серотонін, лейкотрієни, простагландини. Останні впливають на нервові закінчення, що дифузно розміщуються в різних тканинах. Больовий імпульс надходить до спинного, а потім і до головного мозку. Через один нервовий шлях пацієнт сприймає інтенсивність і локалізацію болю, інший шлях визначає його емоційну реакцію.

Вісцеральний біль пов'язаний з ішемією, хімічним пошкодженням (дією кислоти та протеолітичних ферментів при пептичних виразках тощо), спазмами та розтягуванням гладеньких м'язів внутрішніх органів. Вісцеральний біль відрізняється від соматичного тим, що він супроводжує локальне пошкодження внутрішніх органів і має іррадіаційний характер. Мозок

сприймає його як такий, що надходить із визначеної поверхні шкіри [24].

Таким чином, біль є дуже складним феноменом, який утворюється шляхом переплетення анатомічного, психічного, фізіологічного, біохімічного та соціального компонентів, кожний із яких включає в себе довгу низку складових елементів. На сьогодні немає ідеального лікарського засобу, який би усував біль [11]. Саме тому пошук, створення та впровадження ефективних знеболювальних засобів посідають одне із провідних місць серед фармакологічних розробок.

Анальгетики, які використовуються сьогодні в медичній практиці, поділяються на наркотичні та ненаркотичні. Найактивнішими та специфічно дієвими знеболювальними засобами є наркотичні анальгетики, але вони дуже часто викликають тяжкі побічні дії. Практично неможливо визначити втрати, які завдає розповсюдження наркоманій, викликаних застосуванням опіатів. У зв'язку з цим, використання наркотичних анальгетиків є обмеженим. Це зумовлює необхідність розширення та вивчення ненаркотичних анальгетиків (ННА).

На сьогодні існує широкий арсенал ненаркотичних знеболювальних засобів, які ефективні залежно від патології больового синдрому. Це нестероїдні протизапальні засоби, глюкокортикоїди, місцевоанестезивні, засоби для наркозу, спазмолітики, м'язові релаксанти, трициклічні антидепресанти, протиблювотні, органічні нітрати, блокатори Ca^{2+} -каналів тощо. У механізмі знеболювальної дії ННА виділяють периферійний і центральний компоненти впливу на ноцицептивну систему.

© Т.А. Бухтіарова – д.мед.н., З.П. Омеляненко – к.мед.н., Л.С. Бобкова – к.хім.н., В.П. Даниленко – к.хім.н., В.С. Хоменко – к.мед.н., О.Є. Ядловський – к.біол.н., Т.В. Шатиркіна – к.мед.н., М.І. Голубов – к.хім.н., 2004.

Серед ННА особливе місце займають нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ). Цій групі препаратів притаманні анальгезивна, жарознижувальна та протизапальна дії. Оскільки біль часто поєднується з явищами лихоманки та запальної реакції, комплекс протизапальної, жарознижувальної та знеболювальної активностей можна вважати однією з переваг даної групи препаратів. Серед них можна виділити препарати з переважно анальгезивною дією: парацетамол, кеторолак тощо. Вони виявляють помірний чи слабкий протизапальний ефект, є ефективними, за винятком кеторолаку, при болю слабкої інтенсивності, помірному головному болю, міалгії, артралгії тощо, але не знімають вісцерального болю, крім болю жіночих репродуктивних органів, зумовленого порушеннями балансу простагландинів. На іншому полюсі перебувають препарати з переважно протизапальною дією (піроксикам, індометацин, ібупрофен, диклофенак натрію).

Анальгетичний ефект протизапальних засобів (НПЗЗ) пов'язаний із пригніченням периферійних механізмів формування болю та спрямований на пригнічення синтезу простагландинів (ПГ), біогенних амінів та калекреїнінової системи. Інгібуючи фермент простагландинсинтетази, ННА викликають зниження порога симпатичної передачі ноцицептивних імпульсів до ЦНС. Вважають також, що в механізмі знеболювальної дії ННА та НПЗЗ беруть участь моноамінергічні системи [9, 21, 25].

НПЗЗ поряд із периферичною дією виявляють центральний механізм, блокуючи дію простагландинів у ЦНС, знижують збудливість болевих центрів.

Механізм дії цих НПЗЗ до кінця не вивчено. З'ясовано, що основною ланкою в механізмі дії НПЗЗ є гальмування біосинтезу простагландинів, яке зумовлене блокадою циклооксигенази (ЦОГ) – ключового ферменту, який індукує синтез ПГ із арахідонової кислоти [8]. Існують дві ізоформи ЦОГ – ЦОГ-1 та ЦОГ-2. Вони відрізняються молекулярною структурою і проявляють неоднакову функціональну активність. Так, ЦОГ-1 присутня практично у всіх органах і тканинах (травний канал, нирки, тромбоцити) і бере участь у фізіологічних реакціях організму. ЦОГ-2 в основному відповідає за загальні процеси в організмі [12]. У нормальних умовах ЦОГ-2 відсутня і утворюється під дією деяких тканинних факторів, що спричиняють запальну реакцію. В останні роки було виявлено ще одну форму ЦОГ – ЦОГ-3, яка локалізується переважно в клітинах кори головного мозку. Основний механізм дії парацетамолу включає взаємодію з ЦОГ-3 [3, 8].

Встановлено, що в процесі метаболізму арахідонової кислоти бере участь не тільки ЦОГ, але і ліпооксигеназа (ЛОГ), під впливом якої утворюються лейкотрієни [3, 55, 59]. Лейкотрієни беруть участь у механізмі розвитку запального процесу.

Характерним для дії ННА та НПЗЗ є стабілізуючий вплив на мембрани лізосом шляхом гальмування фосфодіастерази та накопичення цАМФ. Препарати цієї групи перешкоджають виходу лізосомальних гідролаз та інших ферментів (В-глюкуронідази, кислоти фосфатази, пероксидази), що призводять до гальмування клітинної реакції.

На сьогодні пошук речовин з анальгетичною та протизапальною діями продовжує бути актуальним. Традиційні методи скринінгу залишаються на передовому рубежі наукових досліджень. Але при цьому найперспективнішим є скринінг із урахуванням механізмів болю та механізмів дії анальгетичних і протизапальних речовин.

Сучасні аспекти теорії болю висвітлено в огляді [7], в якому автори приділяють увагу таким типам болю, як гострий, хронічний, психосоматичний, ноцицептивний, нейропатичний, а також механізмам передачі болю та його інгібіторам. Тут описано опіати, які застосовуються в сучасній світовій практиці, нові та найновіші опіати, нові лікарські форми та різні сполуки для знеболювання. Новий підхід, що обіцяє забезпечити послаблення хронічного болю, полягає в здійсненні взаємодії рецепторів речовини Р, які беруть участь у передачі больової імпульсації, з нейротоксином сапоніну, введеним у спинний мозок у ділянку накопичення нейронів, що містять рецептори речовини Р [48]. Медіатори запалення і зміни проникності гематоенцефалічного бар'єру обговорюються в роботі [26].

Оригінальний метод скринінгу речовин з анальгетичною дією розробили американські вчені [4]. За цим методом відбір речовин з анальгетичною дією полягає у визначенні переваги їх здатності блокувати тетродоксинчутливі натрієві канали над здатністю блокувати тетродоксинчутливі натрієві канали. Як представника нового класу таких сполук автори запропонували 3-гідроксимоноетилгліцинксилідид [14]. Т.Л. Yaksh розглянув підходи до моделювання больового синдрому на тваринах (пошкодження периферичних нервів і тканин, гостра больова стимуляція тощо), обговорив участь спінальних механізмів у формуванні болю та перспективи розробки нових знеболювальних засобів з використанням моделей із з'ясованим механізмом [64].

В огляді італійських авторів представлено сучасні дані про нові нестероїдні протизапальні засоби целекоксиде і рофекоксиде, що є селективними інгібіторами циклооксигенази-2 (COX-2) [62].

М.В. Gnsnam запропонував радикальний підхід до лікування запального процесу (експериментальна модель карагенінового запалення), якого досягають шляхом дозозалежного зменшення набряку й інфільтрації нейтрофілів під впливом введення імітатора супероксиддисмутази M40403 (1^{-10} мг/кг), але не M40404 [37].

Для лікування різних типів гострого і хронічного болю, особливо ненеуропатичного, запропоновано специфічні анальгетики, що відрізняються від класичних анальгетиків, таких, як опіоїди чи нестероїдні протизапальні засоби, і належать до сполук пептидної природи [5].

Відомо, що хемокіни належать до структурних і функціонально родинних білків з молекулярною масою 8-10 кДа, які функціонально пов'язані з клітинами, що беруть участь у реакціях запалення [10, 49]. В огляді канадські автори розглядають можливу роль хемокінів у процесах запалення в ЦНС і в лейкоцитарній інфільтрації тканин мозку, повідомляють про посилення експресії рецепторів хемокінів у тканинах мозку при травмах, пухлинному рості, інсультах і нейродегенеративних захворюваннях [49].

Певну увагу дослідники приділяють теоретичним методам вивчення деяких аспектів механізмів дії речовин, у подальшому вони використовуватимуть теоретичні розробки на практиці для синтезу. Привертають увагу методи молекулярного моделювання рецепторів [39, 45, 51], вивчення зв'язків між структурою, рецепторною селективністю та антиноцицептивною ефективністю [32].

Модель авторів Onagon і Gurdal описує особливості взаємодії агоністів і зворотних агоністів з димерними формами рецепторів. Вона дозволяє прогнозувати значення коефіцієнта Хілла для лігандів, які досліджують. Вважають, що така модель розширює уявлення про механізми активації рецепторів [39].

Для досліджень взаємодії лігандів з рецепторами, сполучених з γ -білками, що мають 7 трансмембранних доменів, автори Onagon і Gurdal запропонували модель, яка враховує можливість олігомеризації рецепторних білків, обговорили можливість використання моделі для аналізу взаємозв'язку між ефективністю та афінністю лігандів і концентрацією рецепторів [51].

Методами молекулярної механіки проведено моделювання тривимірної структури 7 трансмембранних доменів κ -опіоїдного ре-

цептора. Аналіз взаємодії агоністів типу U-50488 із κ -опіоїдним рецептором на основі розробленої моделі дозволив зробити висновок, що протонований атом азоту піролідинового кільця утворює водневий зв'язок із карбоксильною групою аспарагінової кислоти в положенні 138, а карбоксильний атом кисню лігандів – із гідроксигрупою серину в положенні 187, арильні групи агоністів вписуються в гідрофобну нішу, сформовану залишками амінокислот положеннях 239, 236, 235, 232, 186, 183. Одержані результати необхідні для здійснення синтезу нових κ -агоністів, що відповідатимуть зазначеним вище вимогам [45].

Ще одним важливим напрямком наукових досліджень є вивчення ролі опіатної системи в механізмах дії анальгетиків і НПЗП. Так, в умовах сумісного введення кеторолаку і клонідину в тесті больового впливу на хвіст і в тесті гарячої пластинки налоксон знижував їх антиноцицептивний ефект. У досліджах *in vitro* показано, що кеторолак і клонідин не впливають на зв'язування селективних лігандів з μ -, κ -, δ -рецепторами. Вважають, що кеторолак і клонідин не проявляють прямої взаємодії з опіатними рецепторами різних підтипів [59].

Для лікування запалення було синтезовано і досліджено похідні меркаптоацилпроліну, визначальною особливістю яких є здатність гальмувати лейкотрієн A4 гідролазу [15].

Типові нестероїдні протизапальні засоби характеризуються певними значеннями IC50 гальмування ферментативного метаболізму арахідонової кислоти, при цьому для більшості з них циклооксигеназний шлях метаболізму є селективним або значно перевищує ліпоксигеназний. Вивчення інгібуючого впливу відновленої та окисненої форм нейропротекторного засобу ідебенону на циклооксигеназний і ліпоксигеназний метаболізм арахідонової кислоти показало, що дія відновленої форми засобу збігається з дією антиоксиданта – нордигідрогвайяретової кислоти, а його окиснена форма – із властивостями індометацину та піроксикаму. При цьому величина відношення IC50 інгібування циклооксигеназного напрямку метаболізму до IC50 ліпоксигеназного для окисненої форми дорівнює 3,22, а для відновленої зменшується до 1,38 [35].

Інгібітори циклооксигенази-2: відкриття, селективність і майбутнє. В огляді під такою назвою наведено класи сучасних інгібіторів циклооксигенази, обговорено механізми й особливості їх дії, висвітлено перспективи застосування для лікування запальних процесів різної етіології [46].

Арахідонова кислота й інгібітори ЦОГ, селективні та неселективні інгібітори ЦОГ, приг-

нічення генерації простагландину E2 через ЦОГ-2 в зоні запалення, зміна конформації ЦОГ-2 під впливом НПЗП, множинна дія ЦОГ-2 на клітинну динаміку і рак – далеко не повний перелік наукових інтересів, яким приділяють увагу дослідники в останні роки [35, 34, 40, 52, 56, 57, 60, 61].

Перспективними є наукові розробки кон'югатів з пептидами, наприклад нових лікарських форм кон'югатів циклоспорину А з гептамером аргініну [53].

Ряд авторів показали, що під впливом деяких пептидів знижується рівень речовини прозапалення – цитокіну (інтерферону γ) і підвищується рівень протизапального цитокіну – інтерлейкіну-4 [58]. Інгібіторний ефект, який здійснюють НПЗЗ відносно інтерлейкіну-6, досліджено у роботі [58]. Крім того, поліпептидні молекули антагоніста рецептора ІЛ-1 бета можуть використовуватися для лікування хронічного і гострого запалення, як показано у роботі [24].

Запатентовано спосіб лікування хвороб, опосередкованих через інтерлейкін-8 (ІЛ-8) та інші хемокіни, завдяки пригніченню зв'язування ІЛ-8 з α -рецептором, що реагує тільки з ІЛ-8, або з β -рецептором, який реагує з іншими хемокінами. Автори наводять низку нових фармакологічно активних сполук, які блокують взаємодію ІЛ-8 з рецепторами [16].

Нову хімічну сполуку епоксивібсанін В запропоновано для лікування хвороб, у тому числі запалень, пов'язаних з надмірним виробленням інтерлейкіну-12 [17].

Попередники піримідинових нуклеотидів, у тому числі ацилпохідні цитидину, уридину, оротату й інгібітори уридинфосфорилази, патентуються для лікування системного запалення [18].

Передбачають, що перспективним і новим у підходах до пошуку нових анальгетиків є пошук серед агоністів н-холінорецепторів. Так, показано, що епібатидин характеризується вираженим знеболювальним ефектом, але його токсичність є досить значною. У подальшому пошук нових анальгетиків серед агоністів н-холінорецепторів здійснювали з урахуванням вибірковості їх дії відносно рецепторних підтипів, у результаті було отримано препарат АВТ-594, який не поступається епібатидину за величиною знеболювального ефекту, але є значно кращим, бо має суттєво меншу токсичність [36].

Упродовж останніх чотирьох років пошук нових протизапальних і анальгезивних сполук здійснюють серед різноманітних хімічних класів.

Активно синтезують і досліджують сполуки, отримані на основі модифікації структур молекул вже відомих препаратів, наприклад диклофенаку, напроксену, аспірину тощо. Так, було одержано амідні похідні диклофенак-кислоти, ібупрофену, індометацину, для яких характерним стало збільшення антиоксидного ефекту порівняно з вихідними речовинами, у зв'язку з цим суттєво зменшилась їх токсична дія на шлунково-кишковий тракт [44]. Знеболювальна, протизапальна й ульцерогенна активності притаманні комплексу цинк-напроксену [41]. Було отримано полімерну форму аспірину – поліаспірин, який не вивільнює ацетилсаліцилову кислоту в шлунку. Це попереджує руйнування слизової оболонки шлунка. Автори пропонують застосовувати поліаспірин для лікування запалення кишечника [23]. Нові похідні β -амінонафталінів синтезовано на основі (2-арилідинаміно-тіазол-4-іл)амінонафталінів. Автори звертають увагу на те, що найбільш активній похідній цього ряду притаманне зниження ульцерогенного ефекту порівнянно з фенілбутазоном [31].

Перспективним є пошук нових анальгетиків серед азотовмісних гетероциклів вивчено тіазоло[4,5-d]піримідини [30], біс-індолні сполуки [19], 2-алкіладенозини [20], похідні тіазолу [1], β -лактамі моноциклічні сполуки – нові N-арил-3,3-диметил-азетидин-2-они [54], похідні 2-ацил-5(3)-гідрокситетрагідро-1H-піразолу [65], арил- і гетероарилпохідні азолікарбінолу, наприклад (\pm)- α -[2-(диметиламіно)етокси]-бензил}-1-метил-1H-піразол [6], нові похідні імідазолу [38], ізоксазол[4,5-d]піримідини [22], похідні 9-бензиладеніну – інгібітори фосфодіестерази 4 [33], 3,3-дифеніл-2-оксоіндолін-5-оксіоцтові кислоти та їх алкілпохідні [41] тощо. Так, в останні десятиріччя в медичну практику було впроваджено еторолак, який є похідною піролізину-2 карбонової солі. В Інституті фармакології та токсикології АМН України ведуться комплексні дослідження із створення нового неопіоїдного анальгетика піродазолу, який є похідною піролоімідазолу. Йому не притаманні протизапальна та жарознижувальна активності. В експерименті він не поступається кеторолаку, а на моделі ноцицептивної стимуляції "гаряча пластина" – морфіну гідрохлориду. Ймовірний механізм анальгетичної дії піродазолу пов'язаний із високою інтенсивністю фазного блокування натрієвих іонних потоків у ноцицептивній системі [13].

Значна частина наукових робіт присвячена вивченню побічних ефектів як відомих, так і нових анальгетичних та протизапальних субстанцій і їх метаболітів, систематизації резуль-

татів експериментальних і клінічних досліджень та пошуку шляхів подолання побічної дії лікарських засобів [6, 7, 27, 28, 29, 30, 33, 38, 42, 43, 44, 47, 50, 54, 63, 65].

В оглядовій роботі американські вчені наводять низку даних про роль факторів, що беруть участь у розвитку побічних ефектів ліків [27]. Деякі автори пропонують досягати змен-

шення токсичного впливу на шлунково-кишковий тракт нестероїдними протизапальними засобами з високою антиоксидною активністю [44]. Використання препаратів, інкорпорованих в ліпосоми, повинно підвищити їх стабільність та призвести до зменшення токсичності, як показали дослідники на прикладі топоізомери I/II [19].

ЛІТЕРАТУРА

1. Болотов В.В., Друговина В.В., Дроговоз С.М., Вереитинова В.П. Синтез, свойства и биологическая активность 3,3-дифенил-2-оксоиндолин-5-оксисульфоновых кислот // Фізіол. Актив. Речовини. – 2001. – № 2. – С. 33-36.
2. Брагин Е.О. Нейрохимические механизмы регуляции болевой чувствительности. – М.: Медицина, 1991. – 248 с.
3. Викторов А.П. Безопасность современных нестероидных противовоспалительных препаратов: между Суиллой и Харбидой // Укр. ревматол. журн. – 2002. – № 4 (10). – С. 12-22.
4. Закиров А.У., Пулатов Х.Х., Исмаев Д.Н., Азизов У.М. Изучение противовоспалительных свойств дихлотизола // Эксперим. и клин. фармакол. – 2001. – 64, № 5. – С. 50-52.
5. Заявка 1243262 ЕПВ, МПК7 А61К 31/165, А61К 31/445. Novel use of a peptide class of compound for treating non-neuropathic inflammatory pain // Selve Norma; Schwarz Pharma AG. – No 01106891.3. – Заявл. 20.03.01. – № 01106891.3. – Оpubл. 25.09.02. – РЖФарм., 2003. – 03.07-04Т1.343П. – С. 40.
6. Заявка 1086682 ЕПВ, МПК7 А61К 56/00. Utilization of aryl(or heteryl)azolylcarbinol derivatives in the preparation of a medicament for the treatment of neurogenic inflammation // Merce-Vidal R., Frigola-Constansa J.; Lab. Del. Dr. Esteve, S.A. – № 01106891.3. – Заявл. 18.05.99. – No 99919290.9. – Оpubл. 28.03.01. – Бюл. № 01/13. – РЖФарм., 2002. – 02.03-04Т2.148П. – С. 19.
7. Игнатъев Ю.Д., Зайцев А.А. Современные аспекты терапии боли: опиаты // Качеств. клин. практ. – 2001. – № 2. – С. 2-13.
8. Козачев Н.Н., Селюк М.И. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов в современной клинической практике // Лік. справа. – 2004. – № 1. – С. 66-75.
9. Кукушкин М.Л. Патофизиологические механизмы болевых синдромов // Боль. – 2003. – № 1. – С. 5-13.
10. Мацусима К., Коменяма Х. Хемокины // Minophagen Med. Rev. – 2002. – 47, № 2. – Р. 1-11. – РЖФарм., 2002. – 03.05-04Т2.44. – С. 7.
11. Михайлович В.А., Игнатов Ю.Д. Болевой синдром. – Л.: Медицина, 1990. – 334 с.
12. Насонов В.А. Значение циклооксигеназы 2 в развитии боли // Терапевт. арх. – 2001. – № 5. – С. 56-57.
13. Пархоменко Н.Т., Яценко Л.Н., Куксенко А.М., Бухтиарова Т.А. Влияние нового анальгетика Д-57 на натриевые токи афферентных ганглиев крыс // Нейрофизиология. – 1999. – № 3. – С. 234-238.
14. Пат. 6489119 США, МПК7 С12Q 1/00, G01N 33/53. Analgesic screening method and composition // Miller J.L., Miljanich G.P., Bowersox S.S., Nadasdi L. – Заявл. 06.12.99. – No 09/454714. – Оpubл. 03.12.02. – РЖФарм., 2003. – 03.07-04Т1.342П. – С. 40.
15. Пат. 624276 США, МПК7 А61К31/401, А61К 31/4015. Leukotriene A4 hydrolase inhibitors // Mita S., Horiuchi M., Van M., Fudjimura K. – Заявл. 25.03.98. – No 09/381256. – Оpubл. 05.06.01. – РЖФарм., 2001. – 02.12-04Т2.94П. – С. 12.
16. Пат. 6335352 США, МПК7 А61К31/435, C07D 211/98. IL-8 receptor antagonists // Brian D.L., Gleason J.G., Widdowson K.L. – Заявл. 15.08.97. – No 09/20981. – Оpubл. 01.01.02. – РЖФарм., 2003. – 03.02-04Т3.82П. – № 2. – С. 11.
17. Пат. 6462078 США, МПК7 А61К31/336, C07D 303/14. Epoxyvibsanin B // Ono M., Wada Y., Yamaguchi N. et al. – Заявл. 25.01.02. – No 10/056699. – Оpubл. 08.10.02. – РЖФарм., 2003. – 03.08-04Т2.138П. – С. 16.
18. Пат. 6329350 США, МПК7 C07H 19/06, C07H 19/067. Предшественники пиримидиновых нуклеотидов для лечения системного воспаления и воспалительного гепатита // von Borstel R.W., Vamat M.K., Hiltbrand B.M. et al. – Заявл. 05.06.95. – No 08/464939. – Оpubл. 11.12.01. – РЖФарм., 2001. – №12. – 02.12-04Т2.188П. – С. 19.
19. Пат. 6323233 США, МПК7 А61К 31/40, А61К 31/405. Синтетические соединения для лечения воспаления // Wright A.E., Mattern R.H., Jacobs R.S.; Harbor Branch Oceanographic Institution Inc. – Заявл. 08.07.99. – № 09/349316. – Оpubл. 27.11.01. – РЖФарм., 2003. – 03.02-04Т3.76П. – С. 8.
20. Пат. 6232297 США, МПК7 А61К 31/70, C07H 19/16. Методы и средства для лечения воспалительных заболеваний // Linden J.M., Sullivan G.W., Sarembock Ian G. et al. – Заявл. 15.05.99. – No 09/333387. – Оpubл. 15.05.01. – РЖФарм., 2001. – № 10. – 02.10-04Т2.62П. – С. 9.
21. Пат. 6399573 США, МПК7 А61К 38/00, А61К 45/00. Антагонист рецептора интерлейкина 1 бета // Young P.; SmithKline Beecham Corp. – Заявл. 28.01.00. – No 09/494018. – Оpubл. 04.06.02. – РЖФарм., 2003. – № 10. – 03.05-04Т2.42П. – С. 7.
22. Пат. 6294671 США, МПК7 C07D 487/04, А61К 31/519. Изоксазол[4,5-d]пиримиды как антагонисты кортикотропин рилизинг фактора // Frieze W.E.; DuPont Pharmaceuticals Co. – Заявл. 20.08.99.

- No 09/379143. – Опубл. 25.09.01. – РЖФарм., 2001. – № 12. – 02.12-04Т2.119П. – С. 13.
23. Полиаспирин для целенаправленной и регулируемой доставки // *Chem. Brit.* – 2000. – 36, № 10. – P. 18. – РЖФарм., 2002. – 02.11-04Т2.220. – С. 22.
24. Предтеченський А.І., Гаєвая Л.В., Глумчер Ф.С. Нестероїдні протизапальні засоби. – К.: Вища школа 1996. – 124 с.
25. Тринус Ф.П., Бухтиарова Т.А. Фармакологический анализ участия моноаминергических систем в механизме анальгезирующего действия НПВС // *Фармакол. и токсикол.* – Вып. 24. – К., 1989. – С.89-92.
26. Abbott N. Joan Inflammatory mediators and modulation of blood-brain barrier permeability // *Cell. and Mol. Neurobiol.* – 2000. – 20, № 2. – P. 131-147.
27. Ajayi F.O., Perry J. Adverse drug reactions – a review of relevant factors // *J. Clin. Pharmacol.* – 2000. – 40, № 10. – P. 1093-1101.
28. Akar F., Sonmez U., Kemal B. et al. Protective effect of cromakalim and diazoxide, and proulcerogenic effect of glibenclamide on endomethacin-induced gastric injury // *Eur. J. Pharmacol.* – 1999. – 374, № 3. – P. 461-470.
29. Ammon Susanne, von Richter Oliver, Hofmann Ute et al. In vitro interaction of codeine and diclofenac // *Drug Metab. and Disposit.* – 2000. – 28, № 10. – P. 1149-1152.
30. Balkan A., Goren Z., Urgan H., et al Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory activities of some thiazolo[4,5-d]pyrimidines // *Arzneim.-Forsch.* – 2002. – 52, № 6. – P. 462-467.
31. Bansal Ecta, Srivastava Virendra, Kumar Ashok. Newer substituted b-aminonaphthalenes as potent anti-inflammatory agents // *Arzneim.-Forsch.* – 2000. – 50, № 11. – P. 1009-1014.
32. Bilsky E.J., Qian X., Hruby V.J., Porreca F. Antinociceptive activity of [D-Pen2,D-Pen5]enkephalin and [D-Ala2,Asp4]deltorphin analogs // *J. Pharmacol. And Exp. Ther.* – 2000. – 293, № 1. – P. 151-158.
33. Boichot E., Wallace J., Germa N. Et al. Противовоспалительная активность нового ряда избирательных ингибиторов фосфодиэстеразы 4, созданных на основе 9-бензиладенина // *J. Pharmacol. and Exp. Ther.* – 2001. – 292, № 2. – P. 647-653.
34. Cao Y., Prescott S. Many actions of cyclooxygenase-2 in cellular dynamics and in cancer // *J. Cell. Physiol.* – 2002. – 190, № 3. – P. 279-286.
35. Civenni G., Bezzi P., Trotti D., Volterra A. Inhibitory effect of the neuroprotective agent idebenone on arachidonic acid metabolism in astrocytes // *Eur. J. Pharmacol.* – 1999. – 370, № 2. – P. 161-167.
36. Decker Michael W., Meyer Michael D. Therapeutic potential of neuronal nicotinac acetylcholine receptor agonists as novel analgesics // *Biochem. Pharmacol.* – 1999. – V. 58, № 6. – P. 917-923.
37. Gnsnam M.B. A radical approach to treating inflammation // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2000. – 21, № 4. – P. 119-120.
38. Gomez-Casajus L.A., Cavalcanti F.L., Alfon J. et al. New imidazole derivatives as potent selective and orally active cyclooxygenase 2 inhibitors: Pap. 23 Congress of the Spanish Society of Pharmacology, Alicante, Sept. 24-27, 2000 // *Meth. And Find. Exp. And Clin. Pharmacol.* – 2000. – 22, № 6. – P. 422. – РЖФарм., 2002. – 03.02-04Т2.161. – С. 17.
39. Hall D., Wilson R., Giles H. Receptor dimerization and Hill coefficients // *Trends Pharmacol. Sci.* – 1999. – 20, № 9. – P. 357-358.
40. Halpin R., Geer L., Zhang K. et al. The absorption, distribution, metabolism and excretion of rofecoxib, a protein and selective cyclooxygenase-2 inhibitor, in rats and dogs // *Drug Metab. And Disposit.* – 2000. – 28, № 10. – P. 1244-1254.
41. Jain N.K., Singh A., Kulkarni S.K. Analgesic, anti-inflammatory and ulcerogenic activity of a zinc-naproxen complex in mice and rats // *Pharm. and Pharmacol. Commun.* – 1999. – 5, № 10. – P. 599-602.
42. Kang B.S., Chunh E.Y., Yun Y.P. et al. Inhibitory effects of anti-inflammatory drugs on interleukin-6 bioactivity // *Biol. and Pharm. Bull.* – 2001. – 24, № 6. – P. 701-703.
43. Kataoka Hirofumi, Horie Yukiko, Koyama Rika et al. Interaction between NSAIDs and steroid in rat stomach. Safety of nimesulid as a preferential COX-2 inhibitor and stomach // *Dig. Diseases and Sci.* – 2000. – 45, № 37. – P. 1366-1375.
44. Kourounakis P., Tsiakitzis K., Kourounakis A., Galanakis D. Reduction of gastrointestinal toxicity of NSAIDs via molecular modifications leading to antioxidant anti-inflammatory drugs // *Toxicology.* – 2000. – 144, № 1-3. – P. 205-210.
45. Liu D-X., Jiang H-L., Shen J-Ch., Zhu W-L. Et al. Molecular modeling on kappa opioid receptor and its interaction with nonpeptide kappa opioid agonists // *Acta Pharmacol. Sei.* – 1999. – 20, № 2. – P. 131-136.
46. Mamett Lawrence J., Kalgutkar Amil S. Cyclooxygenase 2 inhibitors: Discovery, selectivity and the future // *Trends Pharmacol. Sci.* – 1999. – 20, №11. – P. 465-469.
47. Masubuchi Yasuhiro, Yamaha Shoko, Horie Toshiharu. Possible mechanism of hepatocyte injury induced by diphenylamine and its structurally related nonsteroidal anti-inflammatory drugs // *J. Pharmacol. and Experim. Ther.* – 2000. – 292, № 3. – P. 982-987.
48. Mathias R. New approach promises relief for chronic pain // *NIDA Notes.* – 2000. – 15, № 5. – P. 12-13.
49. Mennicken F., Maki R., de Souza Errol, Quirion R. Chemokines and chemokine receptors in the CNS: A possible role in neuroinflammation and patterning // *Trends Pharmacol. Sci.* – 1999. – 20, № 2. – P. 73-78.
50. Nettis E., Marcandrea M., Ferrannini A., Tursi A. Tolerability of nimesulide and paracetamol in patients with NSAIDs induced urticaria/angioedema // *Immunopharmacol. And Immunotoxicol.* – 2001. – 23, № 3. – P. 343-354.
51. Onaran H.O., Gurdal H. Ligand efficacy and affinity in an interacting 7TM receptor model // *Trends Pharmacol. Sci.* – 1999. – 20, № 7. – P. 274-278.
52. Ogino K., Hatanaka K., Kawamura M. et al. Meloxicam inhibits prostaglandin E2 generation via cyclooxygenase 2 in the inflammatory site but not that via cyclooxygenase 1 in the stomach // *Pharmacology.* – 2000. – 61, № 4. – P. 244-250.
53. Rothand J., Garlington S., Lin Q. et al. Conjugation of arginin oligomers to cyclosporin A facilitates topical delivery and inhibition of inflammation // *Nature Med.* – 2000. – 6, № 11. – P. 1253-1257.
54. Satumino C., Fusko B., Satumino P., De Martino G. Et al. Оценка анальгетической и противовос-

палительной активности новых β-лактамыных моноциклических соединений // Biol. and Pharm. Bull. – 2000. – **23**, № 5. – P. 654-656. – РЖФарм. – 2002, № 5. – 02.05-04Т1.285. – С. 35.

55. Simon L.S. Are the biologic and clinic effects of the Cox-2 specific inhibitors an advance compared with the effects of tradicional NSAID? // Current opinion in rheumatology. – 2000. – **12**, № 3. – P. 163-170.

56. Smith Timothy, McCracken J., Shin Y-K., DeWitt David. Arachidonic acid and nonsteroidal anti-inflammatory drugs induce conformational changes in the human prostaglandin endoperoxide H₂ synthase-2 (cyclooxygenase-2) // J. Biol. Chem. – 2000. – **275**, № 51. – P. 40407-40415.

57. Schnitzel T.I., Hochberg M.C. COX-2-selective inhibitors in the treatment of arthritis // Clin. J. Med. – 2002. – **69**, № 1. – P.120-130.

58. Seppa N. Peptide puts mouse arthritis out of joint // Sci. News. – 2001. – **159**, № 18. – P. 279.

59. Tejwani G.A., Rattan A.K. Antagonism of antinociception produced by intrathecal clonidine by ketorolac in the rat: The role of the opioid system // Anesth. and Analg. – 2000. – **90**, № 5. – P. 1152-1156.

60. Tegeder I., Neupert W., Guhring H., Geisslinger G. Effects of selective and unselective cyclooxy-

genese inhibitors on prostanoid release from various rat organs // J. Pharmacol. And Exp. Ther. – 2000. – **292**, № 3. – P. 1164-1168.

61. Tibble J.A., Sigthorsson G., Foster R., Bjarnason L. Comparison of the intestinal toxicity of celecoxib, a selective COX-2 inhibitor, and indomethacin in the experimental rat // Scand. J. Gastronteron. – 2000. – **35**, № 8. – P. 802-807.

62. Trois R.W., Nervetti A. Gli inibitori specifici della cicloossigenasi-2 (COX-2): Acquisizioni attuali e prospettive // Acta Bio-Med. Atenco parm. – 2001. – **72**, № 3-4. – P. 55-64. – РЖФарм. 2002. – 02.11-04E2.211ю. – С. 21.

63. Yagi K., Nakamura A., Sekine A. Nonsteroidal anti-inflammatory drug-associated colitis with a histology of collagenous colitis // Endoscopy. – 2001. – **33**, № 7. – P. 629-632.

64. Yaksh T.L. Spinal systems and pain drugs with mechanistically defined models // Trends Pharmacol. Sci. – 1999. – **20**, № 2. – P. 329-337.

65. Zelenin K., Bezhan I., Pastushenkov L. et al. Anti-inflammatory activity of 2-acyl-5(3)-hydroxytetrahydro-1H-pyrazole derivatives // Arzneim.-Forsch. – 1999. – **49**, № 10. – P. 843-848. – РЖФарм. – 2002, № 5. – 02.04-04Т2.63. – С. 10.

СОВРЕМЕННЫЕ НАУЧНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ СОЗДАНИЯ НЕОПИОИДНЫХ ОБЕЗБАЛИВАЮЩИХ СРЕДСТВ

Т.А. Бухтиарова, З.П. Омеляненко, Л.С. Бобкова, В.Ф. Даниленко, В.С. Хоменко, О.Е. Ядловский, Т.В. Шатыркина, М.И. Голубов
ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ, КИЕВ

Резюме

В работе сделано попытку обобщения многочисленных данных об основных направлениях поиска ненаркотических анальгетиков. Показано значение фундаментальных исследований и математического моделирования для целенаправленного создания новых неопиоидных анальгетиков.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **боль, анальгезия, ненаркотические анальгетики.**

MODERN SCIENTIFIC DIRECTIONS OF CREATION OF NONOPIOID ANALGETIC AGENTS

T.A. Buhtiarova, Z.P. Omelianenko, L.S. Bobkova, V.P. Danylenko, V.S. Khomenko, O.Y. Yadlovsky, T.V. Shatyrykina, M.I. Golubov
INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF AMS OF UKRAINE, KYIV

Summary

It is made the attempt of summarizing the numerous data on the basic directions of search of nonopioid analgetics. Value of basic researches and mathematical modelling for purposeful creation of new nonopioid analgetics is shown.

KEY WORDS: **pain, analgesia, non-narcotic analgetics.**

Отримано 30.07.2004 р.

Адреса для листування: Л.С. Бобкова, Інститут фармакології та токсикології АМН України, вул. Ежена Потье, 14, Київ, 03057, Україна.

РОЛЬ ГОРМОНІВ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ В РЕГУЛЯЦІЇ ПРОЦЕСІВ ГЕМОПОЕЗУ

Г.Л. Антоняк, Н.О. Бабич, Т.В. Бабич, Н.Є. Панас, О.В. Снітинська

ЛЬВІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ЛЬВІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

В оглядовій статті наведено нові дані щодо регуляції процесів метаболізму в клітинах кровотворної та імунної систем за участю гормонів щитоподібної залози. Показано функціонування специфічних тироксин-5-дейодиназ (КФ 3.8.1.4) у клітинах системи гемопоезу тварин та обговорюються можливі механізми регуляції їх активності.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: щитоподібна залоза, йодотироніни, тироксин, трийодотиронін, тироксин-5'-дейодиназа.

Гормони щитоподібної залози (тиреоїдні гормони, йодотироніни), тироксин (3,5,3',5'-тетрайодотиронін, Т4) і 3,5,3'-трийодотиронін (Т3) є потужними біорегуляторами, які, діючи на численні ланки внутрішньоклітинного метаболізму, визначають інтенсивність процесів росту і диференціації клітин під час пре- і неонатального періодів розвитку та функціональну активність клітин у дорослому організмі. Багатогранний вплив йодотиронінів на фізіологічні й метаболічні функції клітин здійснюється шляхом регуляції функціонування транспортних систем мембран, інтенсивності надходження до клітин кисню, активності внутрішньоклітинних окисно-відновних реакцій, процесів термогенезу, обміну білків, нуклеїнових кислот, вуглеводів і ліпідів [22, 27, 59]. Як відомо, розлади функціональної активності щитоподібної залози призводять до порушення діяльності ряду систем, зокрема, імунної та кровотворної [5, 27]. У зв'язку з цим, молекулярні механізми впливу тиреоїдних гормонів на процеси гемо- та лімфопоезу впродовж багатьох років були і є предметом інтенсивних досліджень [3, 10, 25, 42]. Мета даного огляду – проаналізувати нові дані щодо механізмів регуляції йодотиронінами гемопоезу й імунної функції в організмі тварин і людини.

РЕЦЕПТОРИ ТИРЕОЇДНИХ ГОРМОНІВ.

Основні метаболічні ефекти йодотиронінів у клітинах реалізуються на рівні експресії генів, однак вплив цих гормонів проявляється і в негеномних ефектах, зокрема у регуляції функцій плазматичної мембрани, мітохондрій, ендоплазматичної сітки, цитоскелета. Це зумовлюється локалізацією їх рецепторів у ядрі, цитоплазмі, мітохондріях клітин майже всіх тканин і органів, зокрема клітин крові, органів гемо- і лімфопоезу [3, 4, 11, 30, 60]. Ядерні рецептори йодотиронінів належать до негістонових білків, які, зв'язуючись із специфічними респонс-елементами в промоторних ділянках чутливих генів, здатні регулювати їх експресію [52, 57]. На даний час відомо є декілька ізоформ ядерного рецептора тиреоїдного гормону (TR), що кодуються генами TR α і TR β . Синтез основних із них – TR α 1 і TR β 1 – відбувається в клітинах більшості органів і тканин, а TR β 2 виявляють, головним чином, у гіпофізі, гіпоталамусі [7, 55, 58]. У попередниках еритроїдних клітин синтезується рецептор TR α , що кодується протоонкогеном *c-erbA*. Як і в інших клітинах організму, він характеризується високою спорідненістю з трийодотироніном та є лігандо-залежним активатором процесу транскрипції [10, 12, 30].

Молекули рецептора асоціюють із білками-коактиваторами (Trip1, TIF1, TRAP, CBP/p300 і ACTR), які взаємодіють з ацетилазами гістонів

© Г.Л. Антоняк, Н.О. Бабич, Т.В. Бабич, Н.Є. Панас, О.В. Снітинська, 2004.

і можуть виявляти власну гістонацетилазну активність. Коактиватори активують процес транскрипції внаслідок конформаційних змін у структурі хроматину [16, 30, 55]. На функціональну активність рецептора впливають також і ядерні корепресори (NcoR, SMRT, SUN-CoR), що беруть участь в активації гістондеацетилаз. Взаємодія корепресорів з ділянками хроматину призводить до локальної інактивації останніх [53, 55]. Таким чином, асоційований із ДНК рецептор тиреоїдного гормону може існувати у двох альтернативних конформаціях, зазнаючи конформаційних змін у разі приєднання і від'єднання ліганду. За відсутності T_3 один із доменів рецептора зв'язується з корепресором, що зумовлює до інактивацію хроматину та репресію генів, а за наявності гормону рецептор зв'язується з молекулою T_3 , внаслідок чого відбуваються від'єднання корепресорів, асоціація рецептора з коактиваторами та активація процесу транскрипції [11, 52, 57].

Публікації останніх років, свідчать про те, що функціональним станом рецептора TR значною мірою визначається стимулювальний вплив тиреоїдних гормонів на процеси диференціації або проліферації клітин системи гемопоезу [11, 19, 30]. Зв'язування рецептора з лігандом активує процес транскрипції та сприяє диференціації попередників еритроїдних клітин, а за відсутності T_3 процес транскрипції пригнічується. Отже, дисоціація ліганд-рецепторного комплексу з вивільненням c-erbA/TR зумовлює припинення диференціації клітин і стимулює процес їх проліферації [11]. Подібним чином діє онкогенний антагоніст TR – нездатний до зв'язування з лігандом рецептор, що кодується геном v-ErbA. Останній бере участь у лейкемічній трансформації клітин, інфікованих вірусом еритробластозу птахів AEV [16, 57].

Водночас стимулювальний вплив тиреоїдного гормону на процес транскрипції в кровотворних, як і в інших, клітинах посилюється внаслідок асоціації з іншими рецепторами, особливо з рецептором ретиноїдів [11].

ВПЛИВ ЙОДОТИРОНІНІВ НА ПРОЦЕСИ ГЕМО- ТА ЛІМФОПОЕЗУ. Функціонування рецепторів тиреоїдного гормону в клітинах кровотворної системи зумовлює значну чутливість цих клітин до регуляторного впливу йодотиронінів [11, 19, 23, 28]. Згідно з даними клінічних спостережень, стан гіпотиреоїдизму часто супроводжується анемією, що коригується шляхом введення тиреоїдних гормонів [24, 47]. У ході експериментальних досліджень встановлено, головним чином, стимулювальний вплив T_3 і T_4 на процес еритропоезу [2, 26,

27]. Так, за наявності йодотиронінів у середовищі культивування клітин кісткового мозку процеси росту бурстів еритроїдних клітин активуються, що зв'язано з дією біорегуляторів на проліфераційну активність BFU-E. Водночас тиреоїдні гормони стимулюють процеси диференціації цих клітин до зрілих еритроїдних попередників [26, 45]. Результати щодо стимулювального впливу гормону на функціональну активність BFU-E стали основою для гіпотези, згідно з якою T_3 впливає на ранні, нечутливі до дії еритропоетину, попередники еритроїдних клітин [45]. Однак результати досліджень Golde et al. свідчать про те, що тиреоїдні гормони впливають на функціональну активність не лише BFU-E, але й клітин, які перебувають на більш пізніх стадіях еритроїдної диференціації [25, 26]. Зокрема, в цих роботах показано, що T_3 в концентраціях 50-100 нг/мл стимулює процес утворення еритроїдних колоній, діючи на метаболізм CFU-E як за наявності, так і відсутності в середовищі еритропоетину. Наведені дані підтверджуються результатами недавніх досліджень, у ході яких встановлено зв'язок між окремими ланками механізмів реалізації регуляторних сигналів T_3 і еритропоетину. Цей зв'язок опосередковується взаємодією тирозинкінази Lyn – компонента сигнального шляху еритропоетину – й асоційованого із рецептором T_3 коактиватора транскрипції Trip-1 [30].

Регуляторні ефекти тиреоїдних гормонів у клітинах еритроїдного ряду проявляються в стимуляції процесів мембранного транспорту іонів заліза та в змінах інтенсивності синтезу окремих регуляторних, структурних і функціональних білків. Зокрема, під впливом T_3 в еритроїдних попередниках зменшується вміст мРНК продукту раннього гена c-myb та збільшується вміст мРНК карбоангідрази II [53], під впливом тироксину індукується синтез фетального гемоглобіну, активується синтез гему і глобіну [46, 50]. Водночас тиреоїдні гормони можуть діяти як модулятори структурно-функціональних властивостей білків у зрілих клітинах, впливаючи на обмінні процеси [2, 18].

Тиреоїдні гормони впливають на еритропоез не лише, діючи на метаболізм в еритроїдних клітинах, але й шляхом регуляції синтезу еритропоетину. За гіпотиреоїдизму інтенсивність обміну речовин в організмі та кисневий запит клітин зменшуються, що призводить до пригнічення синтезу еритропоетину. Після введення тироксину вказані параметри відновлюються, а інтенсивність еритропоезу зростає [6].

Що стосується впливу тиреоїдних гормонів на процеси мієлопоезу, то на даний час відомо,

що йодотироніни активують окремі, зокрема кисне-залежні, стадії енергетичного обміну в лейкоцитах, як і в інших клітинах організму [10, 34]. Однак інтенсивність гранулоцитопоезу в кістковому мозку тварин під дією цих гормонів знижується [2, 38, 40].

Йодотиронін у регулюють лімфопоез та функціональний стан клітин імунної системи в організмі людини і тварин [21, 32, 39, 42]. У фізіологічних дозах ці гормони стимулюють процес утворення антитіл та реакції гуморального імунітету, підсилюють кооперативну взаємодію Т-лімфоцитів з В-клітинами у процесі формування гуморальної імунної відповіді на вплив антигенів. Після видалення щитовидної залози у тварин спостерігається лімфопенія, а у хворих на гіпертиреоз – розвиток В-лімфоцитозу та збільшення розмірів лімфоїдних тканин [5, 21, 27]. Найбільш чутливими до впливу тиреоїдних гормонів є ранні попередники В-лімфоцитів [21, 24, 42]. Так, у гіпотиреоїдних *hwt/hwt* мишей вміст популяцій попередників В-клітин CD45R⁺CD43⁺HSA⁺, пре-В-клітин CD45R⁺CD43⁻HSA⁻ і В-лімфоцитів CB45R⁺sIgM/ у кістковому мозку значно менший, ніж у нормальних тварин, [21]. Зустрічаються повідомлення про зниження інтенсивності синтезу антитіл та пригнічення проліферативної відповіді лімфоїдних клітин на дію мітогенів після введення тваринам тироксину [43].

На даний час молекулярні механізми дії тиреоїдних гормонів щодо В-лімфопоезу повністю не з'ясовано. Відомо, що безпосередній вплив йодотиронінів на метаболізм у лімфоїдних клітинах здійснюється шляхом зв'язування з рецепторами TR α і TR β , причому в лімфоцитах виявляються ізоформи TR α 1, TR β 1, TR α 2 та TR β 2 [8, 37]. Проте деякі ефекти T₃ в цих клітинах опосередковуються взаємодією гормону з орфановими рецепторами, що характеризуються особливими структурами і молекулярними властивостями у порівняно з TR α і TR β [44]. Певною мірою вплив йодотиронінів може опосередковуватись активацією утворення в клітинах інших регуляторів функціональної активності лімфоцитів (гормон росту, IGF-I) [42].

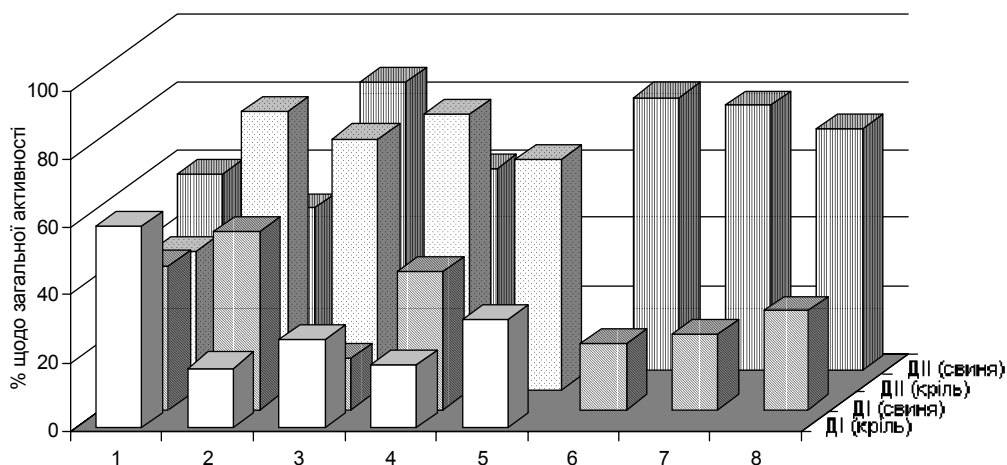
ПРОЦЕСИ ДЕЙДУВАННЯ ЙОДОТИРОНІНІВ У КЛІТИНАХ СИСТЕМИ ГЕМОПОЕЗУ. В молекулярних механізмах дії тиреоїдних гормонів важлива роль належить процесам 5'- і 5-дейодування їх молекул, що відбуваються у клітинах щитоподібної залози і периферичних тканин. За участю тироксин-5'- і йодотиронін-5-дейодиназ, відповідно, утворюються T₃ та реверсійний трийодотиронін (3,3',5'-T₃, pT₃), які можуть зв'язуватись із внутрішньоклітин-

ними рецепторами, зазнавати подальших перетворень або виділятися в позаклітинне середовище [3, 14, 33, 36]. У каталізі процесу 5'-дейодування тироксину з утворенням T₃ задіяні специфічні тироксин-5'-дейодинази типів I і II (Т-5'-ДІ, Т-5'-ДІІ) (КФ 3.8.1.4), а процес 5-дейодування тироксину з утворенням pT₃ каталізує йодотиронін-5-дейодиназа (ДІІІ). Усі три ферменти містять в активному центрі необхідний для каталітичної активності амінокислотний залишок селеноцистеїну (SeCys), який кодується нуклеотидною послідовністю UGA, а в молекулах мРНК дейодиназ виявляється характерна ділянка SECIS (Selenocysteine Insertion Sequence) [17, 33, 35]. Експресія генів дейодиназ та синтез їх молекул регулюються низкою чинників (гормони, цитокіни, мікроелементи, аліментарні фактори, вік і фізіологічний стан організму або клітини) [3, 14, 33, 35]. У літературі наявні дані й про зміни активності йодотиронін-5'-дейодиназ за умов пухлинного росту [31].

Інтенсивні дослідження тироксин-5'-дейодиназ у клітинах системи гемопоезу розпочались близько десяти років тому [1, 20, 41, 54, 56]. На даний час активність, дейодиназ а в окремих експериментах і мРНК тироксин-5'-дейодиназ виявлено в нейтрофільних гранулоцитах, моноцитах і макрофагах, лімфоцитах, клітинах кісткового мозку, еритроцитах, у клітинах органів лімфоцитопоезу (тимус, селезінка) [1, 20, 41]. Висока активність тироксин-5'-дейодиназ спостерігається в кровотворній тканині кісткового мозку деяких тварин (свиня, кріль) під час раннього постнатального періоду. Однак у видів, в яких становлення гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної осі відбувається під час пренатального періоду (свиня), загальна активність ферменту значно вища, ніж у тварин, в яких цей процес здійснюється після народження (кріль) [1].

Встановлено, що в ранній постнатальний періоді у мієлоїдних клітинах кісткового мозку, лейкоцитах, клітинах селезінки свині переважає активність тироксин-5'-дейодинази типу II, а в еритроїдних клітинах виявляється високий рівень активності 5'-дейодиназ обох типів. У клітинах кровотворної системи кроля в ранній період після народження переважає активність тироксин-5'-дейодинази типу II (рис. 1).

Ядровмісні еритроцити птиці характеризуються значним рівнем активності обидвох тироксин-5'-дейодиназ (рис. 2). Такі дані вказують на онтогенетичні особливості, видову і тканинну специфічність в експресії селенопротеїнів у клітинах системи гемопоезу тварин [20, 35, 54].



1 – клітини кісткового мозку; 2 – еритроїдні клітини кісткового мозку; 3 – міелоїдні клітини кісткового мозку, 4 – еритроцити; 5 – лейкоцити; 6 – нейтрофільні гранулоцити; 7 – лімфоцити; 8 – клітини селезінки.

Рис. 1. Активність тироксин-5'-дейодиназ типів I і II (ДІ і ДІІ) у клітинах новонароджених тварин (кріль, свиня).

Відомо, що в більшості типів клітин рівень експресії молекул йодотиронін-5'-дейодинази типу I та каталітична активність ферменту залежать від стимулювального впливу йодотиронінів, однак дія тиреоїдних гормонів на активність дейодинази типу II є інгібуючою [33, 35, 48]. Вказана закономірність спостерігається і в клітинах системи гемопоезу. Так, тироксин неоднозначно впливає на активність вказаних ферментів в еритроїдних клітинах кісткового мозку свині, зумовлюючи збільшення активності T-5'-ДІ та пригнічуючи активність T-5'-ДІІ [1]. Активність T-5'-ДІІ після введення тваринам тироксину знижується також і в міелоїдних клітинах та лімфоцитах [9].

Згідно з даними літератури, стимулювальний вплив тиреоїдних гормонів на активність ДІ зумовлюється наявністю двох функціонально активних респонс-елементів у ділянці промотора ферменту, тоді як інгібуюча дія йодотиронінів на активність ДІІ опосередковується їх участю як у посттрансляційних, так і в претрансляційних механізмах регуляції синтезу й

активності ферменту [9, 14, 48, 51]. Показано, що тироксин інгібує активність тироксин-5'-дейодиназ *in vitro* внаслідок інактивації молекул ферменту в під час реакції, впливаючи на активність T-5'-ДІІ більшою мірою, ніж на активність T-5'-ДІ, та стимулює процес транспорту молекул ферменту до клітинних компартментів, у яких відбувається його деградація [14, 33, 48]. Водночас важливою ланкою в механізмах регуляції активності T-5'-ДІІ є інгібуючий вплив T_3 на синтез мРНК ферменту. Так, рівень мРНК T-5'-ДІІ в передній частці гіпофіза щура зростає втричі в умовах гіпотиреоїдного стану, а при гіпертиреозі знижується. Подібні ефекти йодотиронінів виявлено в структурах церебрального кортексу, а також у лімфоцитах периферичної крові [33, 51].

Оскільки йодотиронін-дейодинази є селено-залежними ферментами, процес їх синтезу та функціональна активність у клітинах системи гемопоезу істотно залежить від забезпечення організму селеном [1, 15, 35, 49]. Водночас іони заліза неоднозначно діють на активність дейодиназ. Так, після введення залізодекстранового препарату в клітинах кісткового мозку тварин підвищується активність T-5'-ДІ та зменшується активність T-5'-ДІІ [1]. Імовірно, в механізмах активації процесів еритропоезу, що проявляється під впливом залізо- і селеновмісних сполук [29], певну роль відіграє активуюча дія мікроелементів на активність T-5'-ДІ, вміст якої досягає значного рівня в кровотворних клітинах. З іншого боку, в літературі наявні дані щодо зниження тиреоїдного статусу організму під впливом іонів заліза [5, 13]. Таким чином, роль тиреоїдних гормонів у регуляції процесів гемопоезу залежить від багатьох регуляторних чинників, узгоджена дія яких регулює надходження йодоти-

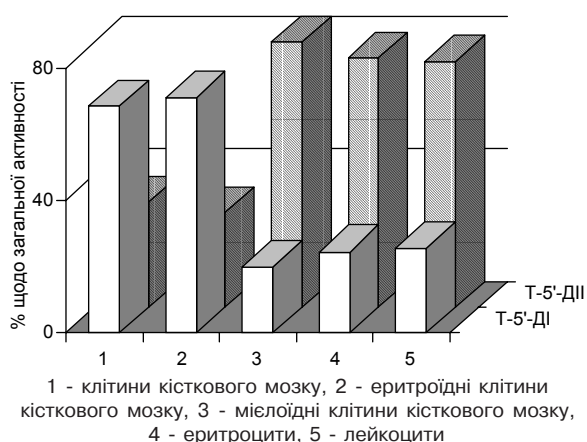


Рис. 2. Активність тироксин-5'-дейодиназ типів I і II (ДІ і ДІІ) у клітинах 1-денних курчат.

ронінів до внутрішньоклітинних рецепторів та забезпечує їх різнобічну участь у регуляції метаболізму і фізіологічних функцій кровотворних клітин.

Аналіз наведених даних дає підставу вважати, що гормони щитоподібної залози належать до важливих регуляторів процесів кровотворення, особливо в ранній постнатальній періоді розвитку. Вплив йодотиронінів на метаболізм у клітинах системи гемопоєзу, як і в інших клітинах організму, значною мірою опосередковується системою конверсії тироксину до трийодотироніну – безпосереднього

регулятора функціональної активності генів. Однак наявних у літературі даних недостатньо для остаточного з'ясування механізмів дії тиреоїдних гормонів щодо функціональної активності клітин кровотворної та імунної систем і молекулярних властивостей йодотиронін-дейодиназ у цих клітинах. У зв'язку з цим, перспективними є дальші експериментальні дослідження, які б дали змогу доповнити сучасні уявлення про механізми впливу гормонів щитоподібної залози на процес гемопоєзу та їх роль у формуванні імунної відповіді організму на дію антигенів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Антоняк Г.Л. Активність селензалежних ферментів еритроїдних клітин тварин у неонатальному періоді розвитку // Укр. біохім. журн. – 2000. – **72**, № 1. – С. 93-99.
2. Антоняк Г.Л. Особливості гемопоєзу у тварин на ранніх стадіях постнатального розвитку: Автореф. дис. д-ра біол. наук: 03.00.04 – Львів, 2002. – 29 с.
3. Антоняк Г.Л., Бабич Н.О., Сологуб Л.И. Структура і функції йодотиронин-дейодиназ в клітках человека и животных // Успехи соврем. биологии. – 2002. – **122**, № 3. – С. 289-298.
4. Антоняк Г.Л., Игнатенко Ю.В., Бабич Н.О., Снитинский В.В. Структура і функції рецепторів тиреоїдних гормонів // Цитология и генетика. – 2000. – **34**, № 5. – С. 68-80.
5. Браверман Л.И. Болезни щитовидной железы. – М.: Медицина, 2000. – 417 с.
6. Макаров В.П. Эритропоэз и энергообмен организма. – Новосибирск: Наука, 1984. – 240 с.
7. Abel E.D., Boers M.-E., Pazos-Moura C. et al. Divergent roles for thyroid hormone receptor isoforms in the endocrine axis and auditory system // J. Clin. Invest. – 1999. – **104**, № 3. – P. 291-300.
8. Arpin C., Pihlgren M., Fraichard A. et al. Effects of T3R α 1 and T3R β 2 gene deletion on T and B lymphocyte development // J. Immunol. – 2000. – **164**. – P. 152-160.
9. Babych N., Antonyak H., Lacka K. et al. Type 2 iodothyronine deiodinase mRNA levels in human peripheral blood lymphocytes of hypo- and hyperthyroid patients // Proc. The 3rd Parnas Conf. "Mechanisms of Cellular Signal Transduction and Communication". – Lviv (Ukraine), 2000. – P. 64.
10. Babych N., Antonyak Y., Sklyarov A.Y. The influence of thyroxine on intensity of energy metabolism in bone marrow myeloid cells and neutrophilic polymorphonuclear leukocytes of neonatal pig // Endocrine Regulations. – 2000. – **34**. – P. 73-81.
11. Bartunek P., Zenke M. Retinoid X receptor and c-erbA/thyroid hormone receptor regulate erythroid cell growth and differentiation // Mol. Endocrinol. – 1998. – **12**, № 9. – P. 1269-1279.
12. Bauer A., Mikulits W., Lagger G. et al. The thyroid hormone receptor functions as a ligand-operated developmental switch between proliferation and differentiation of erythroid progenitors // EMBO J. – 1998. – **17**, № 15. – P. 4291-4303.
13. Beard J.L., Brigham D.E., Kelley S.K. Plasma thyroid hormone kinetics are altered in iron-deficient rats // J. Nutr. – 1998. – **128**, № 8. – P. 1401-1408.
14. Bianco A.C., Salvatore D., Gereben B. et al. Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases // Endocr. Rev. – 2002. – **23**, № 1. – P. 38-89.
15. Burk R.F. Selenium: recent clinical advances // Curr. Opin. Gastroenterol. – 2001. – **17**, № 2. – P. 162-166.
16. Chen H., Lin R.J., Schiltz R.L. et al. Nuclear receptor coactivator ACTR is a novel histone acetyltransferase and forms a multimeric activation complex with P/CAF and CBP/p300 // Cell. – 1997. – **90**. – P. 569-580.
17. Croteau W., Dawey J.C., Yalton V.A., Yerman D.J. St. Cloning of the mammalian type II iodothyronine deiodinase. A selenoprotein differently expressed and regulated in human and rat brain and other tissues // J. Clin. Invest. – 1996. – **98**, № 2. – P. 405-417.
18. De Riva C., Vircici F. Impaired Na, K-ATPase activity in red blood cells in euthyroid women treated with levothyroxine after total thyroidectomy for Graves' disease // Metabolism. – 1998. – **47**, № 10. – P. 1194-1198.
19. Dinner R.D., White S.R., Elsayed S. et al. An endogenous signal triggering erythroid differentiation: identification as thyroid hormone // Cell. Growth. Differ. – 1994. – **5**, № 8. – P. 855-861.

20. Ebert-Dumig R., Seufert J., Schneider D. et al. Expression of selenoproteins in monocytes and macrophages – implications for the immune system // *Med. Clin.* – 1999. – **94**. – P. 29-34.
21. Erf C.F. Immune development in young C.RF-hyt mice is affected by congenital and maternal hypothyroidism // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* – 1993. – **204**, № 1. – P. 40-48.
22. Felig P., Baxter J.D., Frohman L.A. (Eds). *Endocrinology and Metabolism* /3rd Ed. – McGraw-Hill, Inc. Health Professions Division, 1995. – 1940 p.
23. Foster M.P., Montecino-Rodriguez E., Dorshkind K. Proliferation of bone marrow pro-B cells is dependent on stimulation by the pituitary/thyroid axis // *J. Immunol.* – 1999. – **163**. – P. 5883-5890.
24. Franzese A., Salerno M., Argenziano A. et al. Anemia in infants with congenital hypothyroidism diagnosed by neonatal screening // *J. Endocrinol. Invest.* – 1996. – **19**, № 9. – P. 613-619.
25. Golde D.W., Bersch N., Chopra I.J., Cline M. Thyroid hormone stimulate erythropoiesis in vitro // *Brit. J. Haematol.* – 1977. – **37**. – P. 173-177.
26. Golde D.W., Bersch N., Cline M.J. Hormonal effects on erythroid stem cells / In: *Cellular and Molecular Regulation of Hemoglobin Switching*. G. Stamatoyannopoulos, A.W.Neiehuis (Eds.). – N. Y., 1979. – P. 305-321.
27. Greer M.A. (ed). *The Thyroid Gland*. – N.Y.: Raven Press, 1990. – 594 p.
28. Hastings M.L., Milcarek C., Martincic K. et al. Expression of the thyroid hormone receptor gene, *erbAalpha*, in B lymphocytes: alternative mRNA processing is independent of differentiation but correlates with antisense RNA levels // *Nucl. Acids Res.* – 1997. – **25**, № 21. – P. 4296-4300.
29. Hill G.M., Link J.E., Meyer L., Fritsche K.L. Effect of vitamin E and selenium on iron utilization in neonatal pigs // *J. Anim. Sci.* – 1999. – **77**, № 7. – P. 1762-1768.
30. Ingley E., Chappell D., Poon S.Y.K. et al. Thyroid hormone receptor-interacting protein 1 modulates cytokine and nuclear hormone signaling in erythroid cells // *J. Biol. Chem.* – 2001. – **276**, № 46. – P. 43428-43434.
31. Kim B.W., Daniels G.H., Harrison B.J. et al. Overexpression of type 2 iodothyronine deiodinase in follicular carcinoma as a cause of low circulating free thyroxine levels // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2003. – **88**, № 2. – P. 594-598.
32. Kmiec Z., Mysliwska J., Rachon D. et al. Natural killer activity and thyroid hormone levels in young and elderly persons // *Gerontology*. – 2001. – **47**, № 5. – P. 282-288.
33. Kohrle J. The deiodinase family: selenoenzymes regulating thyroid hormone availability and action // *Cell Mol. Life Sci.* – 2000. – **57**, № 13-14. – P. 1853-1863.
34. Kvetny J., Matzen L.E. Effect of thyroxine on cellular oxygen consumption and glucose uptake: evidence of an effect of total T_4 and not "free T_4 " // *Horm. Metab. Res.* – 1990. – **22**, № 9. – P. 485-489.
35. Larsen P.R., Berry M.J. Nutritional and hormonal regulation of thyroid hormone deiodinases // *Annu. Rev. Nutr.* – 1995. – **15**. – P. 123-152.
36. Leonard J.L., Visser T.J., Leonard D.M. Characterization of the subunit structure of the catalytically active type I iodothyronine deiodinase // *J. Biol. Chem.* – 2001. – **276**, № 4. – P. 2600-2607.
37. Liu Y., Gao Y., Cai T. Expression of T3 receptor genes in peripheral lymphocytes from patients with thyroid dysfunction // *Zhonghua Nei Ke Za Zhi.* – 1996. – **35**, № 6. – P. 389-391.
38. Mak N.K., Lai W.H., Liu W.K. et al. The effects on methimazole on haematopoiesis in mice // *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* – 1995. – **17**, № 4. – P. 745-757.
39. Marsh J.A., Erf C.F. Interactions between the thyroid and the immune system // *The Physiology of Immunity*. J.A. Marsh, M.D. Kendall (eds). – CRC Press, 1996. – P. 211-235.
40. Mikeska J., Pospisil M. Erythrocytic and granulocytic differentiation of transplanted bone marrow cells in mice treated with thyroid hormones // *Folia Biol. Praha.* – 1981. – **27**, № 2. – P. 126-134.
41. Molinero P., Osuna C., Guerro J.M. Type II thyroxine 5'-deiodinase in the rat thymus // *J. Endocrinol.* – 1995. – **146**, № 1. – P. 105-111.
42. Montecino-Rodriguez E., Clark R.G., Powell-Braxton L., Dorshkind K. Primary B cell development is impaired in mice with defects of the pituitary/thyroid axis // *J. Immunol.* – 1997. – **159**. – P. 2712-2719.
43. Ong M.L., Malkin D.G., Malkin A. Alteration of lymphocyte reactivities by thyroid hormones // *Int. J. Immunopharmacol.* – 1986. – **8**. – P. 755-762.
44. Ortiz M.A., Piedrafita F.J., Pfahl M., Maki R. TOR: a new orphan receptor expressed in the thymus that can modulate retinoid and thyroid hormone signals // *Mol. Endocrinol.* – 1995. – **9**, № 12. – P. 1679-1691.
45. Perrin M., Blanchet J., Mouchiroud G. Modulation of human and mouse erythropoiesis by thyroid hormone and retinoic acid: evidence for specific effects at different steps of the erythroid pathway // *Hematol. Cell Therapy.* – 1997. – **39**, № 1. – P. 19-26.
46. Smith T.J., Drummond J.S. Thyroid hormone regulation of heme synthesis in rat liver // *Endocrinol.* – 1998. – **122**. – P. 1964-1967.
47. Song S.H., McCallum C., Campbell I. Hypoplastic anaemia complicating myxoedema coma // *Scott. Med. J.* – 1998. – **43**, № 5. – P. 149-150.
48. Stachelek S.J., Kowalik T.F., Farwell A.P., Leonard J.L. Myosin V plays an essential role in the thyroid hormone-dependent endocytosis of type II iodothyronine 5'-deiodinase // *J. Biol. Chem.* – 2000. – **275**, № 41. – P. 31701-31707.
49. Stadtman T.C. Selenocysteine // *Annu. Rev. Biochem.* – 1996. – **65**. – P. 83-100.
50. Sullivan C.V., Dickhoff W.W., Mahnken C.V.W. et al. Changes in the hemoglobin system of the Coho Salmon *Oncorhynchus Risetsh* during smoltification and triiodothyronine and propylthiouracil treatment // *Comp. Biochem. Physiol.* – 1985. – **A81**, № 4. – P. 807-817.
51. Toyoda N., Zavacki A.M., Maia A.L. et al. A novel retinoid X receptor-independent thyroid hormone response element is present in the human type 1 deiodinase gene // *Mol. Cell. Biol.* – 1995. – **15**. – P. 5100-5112.
52. Tsai M.J., O'Malley B.W. Molecular mechanisms of action of steroid/thyroid receptor superfamily

members // Ann. Rev. Biochem. – 1994. – **63**. – P. 451-486.

53. Urnov F.D., Yee J., Sachs L. et al. Targeting of N-CoR and histone deacetylase 3 by the oncoprotein v-ErbA yields a chromatin infrastructure-dependent transcriptional repression pathway // EMBO J. – 2000. – **19**, № 15. – P. 4074-4090.

54. Van Doorn J., Roelfsema F., van der Heide D. Concentration of thyroxine and 3,5,3-triiodothyronine at 34 different sites in euthyroid rats as determined by an isotopic equilibrium technique // Endocrinol. – 1985. – **117**. – P. 1201-1208.

55. Wagner R.L., Huber B.R., Shiau A.K. et al. Hormone selectivity in thyroid hormone receptors // Mol. Endocrinol. – 2001. – **15**, № 3. – P. 398-410.

56. Woeber K.A., Maddux B.A. L-Triiodothyronine and L-reverse-triiodothyronine generation in the human

polymorphonuclear leukocyte // J. Clin. Invest. – 1978. – **62**. – P. 577-584.

57. Wolffe A.P., Collingwood T.N., Li Q. et al. Thyroid hormone receptor, v-ErbA, and chromatin // Vitam. Horm. – 2000. – **58**. – P. 449-492.

58. Yang Z., Privalsky M.L. Isoform-specific transcriptional regulation by thyroid hormone receptors: hormone-independent activation operates through a steroid receptor mode of coactivator interaction // Mol. Endocrinol. – 2001. – **15**, № 7. – P. 1170-1185.

59. Yen P.M. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action // Physiol. Rev. – 2001. – **81**. – P. 1097-1142.

60. Zhang J., Lazar M.A. The mechanism of action of thyroid hormones // Annu. Rev. Physiol. – 2000. – **62**. – P. 439-466.

РОЛЬ ГОРМОНОВ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЦЕССОВ ГЕМОПОЭЗА

Г.Л. Антоняк, Н.О. Бабич, Т.В. Бабич, Н.Е. Панас, О.В. Снитинская
ЛЬВОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ЛЬВОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

Резюме

В обзорной статье приводятся новые данные относительно регуляции процессов метаболизма в клетках кроветворной и иммунной систем с участием гормонов щитовидной железы. Показано функционирование специфических тироксин-5'-дейодиназ (КФ 3.8.1.4) в клетках системы гемопоэза животных и обсуждаются возможные механизмы регуляции их активности.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: щитовидная железа, йодотиронины, тироксин, трийодотиронин, тироксин-5'-дейодиназа.

ROLE OF THYROID GLAND HORMONES IN REGULATION OF HAEMOPOIESIS

H.L. Antonyak, N.O. Babych, T.V. Babych, N.Y. Panas, O.V. Snitynska
LVIV STATE AGRARIAN UNIVERSITY

LVIV STATE MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY

Summary

The new data concerning participation of thyroid gland hormones in regulation of metabolism processes in the cells of haemopoietic and immune systems are reviewed in the article. The functioning of specific thyroxine-5'-deiodinases (3.8.1.4) in the cells of haemopoiesis system of animals is shown and possible mechanisms of enzyme activity regulation are discussed.

KEY WORDS: thyroid gland, iodothyronines, thyroxine, triiodothyronine, thyroxine-5'-deiodinase.

Отримано 17.05.2004 р.

Адреса для листування: Г.Л. Антоняк, Львівський державний медичний університет ім. Данила Галицького, вул. Пекарська, 69а, Львів, 79010, Україна.