

Академія медичних наук України

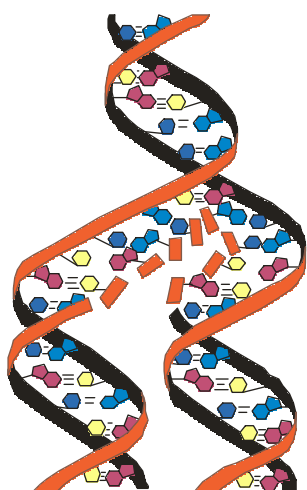
Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця

Українська Академія наук

МЕДИЧНА ХІМІЯ

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ



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

MEDICAL CHEMISTRY

SCIENTIFIC JOURNAL

2 TOM 8
2006

- ❖ *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) 52-78-54
(0352) 52-44-92

Fax: (0352) 52-41-83
<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., Беленічев І.Ф., Коваленко С.І., Левицький Є.Л., Нікітін В.О., Карпенко О.В., Марченко О.М., Авраменко А.І., Павлов С.В., Антипенко Л.М.* (Київ, Запоріжжя) АНТИОКСИДАНТНА ТА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНА АКТИВНІСТЬ ДЕЯКИХ ПОХІДНИХ (3Н)-ХІНАЗОЛІН-4-ТІОНУ ТА [1,2,4]ТРИАЗОЛО[1,5-с]-ХІНАЗОЛІН-2-ТІОНУ 5
- Петрух Л.І., Панич О.П., Михалик О.І., Пронюк О.В., Коваленко М.М.* (Львів) ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ ПОЛІЕТИЛЕНГЛІКОЛЮ-400 З КОМПОНЕНТАМИ МОЛОКА 13
- Самохіна Л.М., Єфімов В.В., Замазій А.Є., Воейкова Л.С.* (Харків) КАЛЬПАЇНИ В СИСТЕМІ "ПРОТЕЇНАЗА-ІНГІБІТОР ПРОТЕЇНАЗ" У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ХРОНІЧНИМ ОБСТРУКТИВНИМ ЗАХВОРЮВАННЯМ ЛЕГЕНЬ 19
- Гнатюк М.С., Котлярченко Л.Т.* (Тернопіль) ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗМІН У СУДИНАХ ПОРОЖНЬОЇ КИШКИ ПРИ ОТРУЄННІ ОРГАНІЗМУ БЛІДОЮ ПОГАНКОЮ 23
- Бурд Н.Б., Кисличенко В.С.* (Харків) ПОРІВНЯЛЬНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АМІНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ НАДЗЕМНОЇ ЧАСТИНИ ТРЬОХ ВИДІВ АМАРАНТУ 27
- Плосканич Л.Й.* (Тернопіль) ВПЛИВ БЛОКАТОРІВ СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ НА СТАН ПЕЧІНКИ ПРИ ЇЇ ІШЕМІЧНО-РЕПЕРФУЗІЙНОМУ ПОШКОДЖЕННІ В ЕКСПЕРИМЕНТІ 31
- Пилипчак О.М., Брюзгіна Т.С.* (Київ) СЕЗОННІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ТА ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ 36
- Демченко О.М.* (Дніпропетровськ) ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД ЛІПІДІВ У СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ СТАРИХ ЩУРІВ ПРИ НОЦИЦЕПТИВНІЙ РЕАКЦІЇ ЗА УМОВ ТИРЕОПАТИЧНОГО СТАНУ 40
- Панас Н.Є.* (Львів) ВПЛИВ УМОВ ГІПОКСІЇ НА ФУНКЦІОНАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ МЕМБРАН ЕРИТРОЦИТІВ ТВАРИН 45
- Острівка О.І., Гонський Я.І.* (Тернопіль) ВПЛИВ КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ ХЛОРИДУ КАДМІЮ ТА НІТРИТУ НАТРІЮ НА ПОКАЗНИКИ БІЛКОВОГО ОБМІНУ В КРОВІ ТА ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ, ОПРОМІНЕНИХ НИЗЬКИМИ ДОЗАМИ РАДІАЦІЇ 49
- Лізогуб В.Г., Артемчук О.О., Брюзгіна Т.С.* (Київ) ДИНАМІКА ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ЛІПОПРОТЕЇНІВ ПЛАЗМИ КРОВІ ХВОРИХ НА НЕСТАБІЛЬНУ СТЕНОКАРДІЮ ПІД ВПЛИВОМ СИМВАСТАТИНУ 53
- Губський Ю.І., Афанасенко О.В.* (Київ) ВИВЧЕННЯ СУБМОЛЕКУЛЯРНИХ ТА КВАНТОВО-ХІМІЧНИХ МЕХАНІЗМІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ ДІЇ ПРИРОДНИХ ТА СИНТЕТИЧНИХ ФЕНОЛІВ. І. ЕНЕРГІЇ ГРАНИЧНИХ МОЛЕКУЛЯРНИХ ОРБІТАЛЕЙ ТА ПОТЕНЦІАЛИ ІОНІЗАЦІЇ 57
- Свиденко Л.В., Работягов В.Д.* (Нова Каховка) МІНЛИВІСТЬ КОМПОНЕНТНОГО СКЛАДУ ЕФІРНОЇ ОЛІЇ У ЛАВАНДИНУ В УМОВАХ ХЕРСОНСЬКОЇ ОБЛАСТІ 61
- Бензель Л.В., Кос І.О., Бензель І.Л.* (Львів) ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОЕЛЕМЕНТНОГО СКЛАДУ ВИДІВ РОДУ ЩАВЕЛІ ТА ЇХ ФІТОСУБСТАНЦІЙ 65
- Іншина Н.М., Нікітченко І.В., Каліман П.А.* (Харків) ВПЛИВ НІТРОПРУСИДУ НАТРІЮ НА 5-АМІНОЛЕВУЛІНАТСИНТАЗНУ АКТИВНІСТЬ І ВМІСТ ДЕЯКИХ ГЕМОПРОТЕЇНІВ У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ 70

Contents

ORIGINAL INVESTIGATIONS

- Hubsky Yu.I., Belenichev I.F., Kovalenko S.I., Levytsky Y.L., Nikitin V.O., Karpenko O.V., Marchenko O.M., Avramenko A.I., Pavlov S.V., Antypenko L.M.* (Kyiv, Zaporizhzhia) ANTIOXIDANT AND HEPATOPROTECTIVE ACTIVITY OF SOME (3H)-QUINAZOLINE-4-THIONE AND [1,2,4]TRIAZOLO [1,5-c]QUINAZOLINE-2-THIONE DERIVATIVES 5
- Petruk L.I., Panych O.P., Mykhalyk O.I., Pronyuk O.V., Kovalenko M.M.* (Lviv) EXPERIMENTAL INVESTIGATION INTERACTION OF POLYETHYLENE GLYCOL-400 AND MILK COMPONENTS 13
- Samokhina L.M., Yefimov V.V., Zamaziy A.Ye., Voeykova L.S.* (Kharkiv) CALPAINS IN "PROTEINASE-PROTEINASE INHIBITOR" SYSTEM IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASES 19
- Hnatjuk M.S., Kotlyarenko L.T.* (Ternopil) PECULIARITIES OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHANGES IN VESSELS OF JEJUNUM UNDER THE DEATH-CUP (AMANITA PHALLOIDES) POISONING 23
- Burd N.B., Kyslychenko V.S.* (Kharkiv) COMPARATIVE DEFINITION OF AMINO ACID COMPOSITION OF OVERGROUND PART THREE SPECIES OF AMARANTHUS 27
- Ploskanych L.Y.* (Ternopil) INFLUENCE OF NITRIC OXIDE SYNTHESIS BLOCKERS ON THE LIVER CONDITION IN EXPERIMENTAL ISCHEMIC-REPERFUSION INJURY 31
- Pylypchak O.M., Bryuzgina T.S.* (Kyiv) SEASONAL SPECIFICITY OF COURSE AND TREATMENT OF PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE 36
- Demchenko E.M.* (Dnipropetrovsk) FATTY-ACID COMPOSITION OF LIPIDS IN STRUCTURES OF OLD RATS' BRAIN AT NOCICEPTIVE REACTION IN THE CONDITIONS OF A THYROPATIC STATE 40
- Panas N.Y.* (Lviv) THE EFFECTS OF HYPOXIA ON FUNCTIONAL PROPERTIES OF RED CELL MEMBRANES OF ANIMALS 45
- Ostrivka O.I., Honsky Ya.I.* (Ternopil) EFFECT OF COMBINED ACTION OF CADMIUM CHLORIDE AND SODIUM NITRITE ON INDICES OF PROTEIN METABOLISM IN BLOOD AND LIVER OF RATS AFTER LOW DOSES OF RADIOACTIVITY 49
- Lizogub V.G., Artemchuk O.O., Bryuzgina T.S.* (Kyiv) DYNAMICS OF FATTY-ACID COMPOSITION OF BLOOD PLASMA LIPOPROTEINS OF THE PATIENTS WITH INSTABLE ANGINA UNDER INFLUENCE OF SIMVASTATIN TREATMENT 53
- Hubskiy Yu.I., Afanasenko O.V.* (Kyiv) STUDY OF SUBMOLECULAR AND QUANTUM-CHEMICAL MECHANISMS OF NATURAL AND SYNTHETIC PHENOLS ANTIOXIDANT ACTION. I. VERGE MOLECULAR ORBITALS ENERGIES AND IONIZATION POTENTIALS 57
- Svydenko L.V., Rabotiagov V.D.* (Nova Kakhovka) VARIABILITY OF ESSENTIAL OIL COMPONENT STRUCTURE OF LAVANDULA HYBRIDA REV. IN CONDITIONS OF KHERSON AREA 61
- Benzel L.V., Kos O.I., Benzel I.L.* (Lviv) DETERMINATION OF MICROELEMENT CONTENT OF RUMEX SPP. AND THEIR PHYTOPHARMACEUTICAL SUBSTANCES 65
- Inshyna N.M., Nikitchenko I.V., Kaliman P.A.* (Kharkiv) INFLUENCE OF SODIUM NITROPRUSSIDE ON 5-AMINOLEVULINATE SYNTHASE ACTIVITY AND CONTENT OF SOME HEMOPROTEINS IN RAT LIVER 70

- Швед М.І., Мазур Л.П., Мартинюк Л.П.* (Тернопіль) ДІАБЕТИЧНА ДИСЛІПІДЕМІЯ: РОЛЬ У ПРОГРЕСУВАННІ АТЕРОСКЛЕРОЗУ ТА ЇЇ ОСОБЛИВОСТІ ЗАЛЕЖНО ВІД СТАНУ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І СТУПЕНЯ КОМПЕНСАЦІЇ ДІАБЕТУ 74
- Коваленко Д.С., Омельянчик Л.О., Бражко О.А.* (Запоріжжя) КОМП'ЮТЕРНЕ ПРОГНОЗУВАННЯ МОЖЛИВИХ ВИДІВ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ 1,2,4-ТРИАЗОЛО[4,3-А]КІНОЛІНІВ 79
- Сибірна Н.О., Барська М.Л., Бродяк І.В.* (Львів) ДОСЛІДЖЕННЯ ВУГЛЕВОДНИХ ДЕТЕРМІНАНТ ГЛІКОПРОТЕІНОВИХ РЕЦЕПТОРІВ НЕЙТРОФІЛЬНИХ ГРАНУЛОЦИТІВ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 1-ГО ТИПУ 85
- Беленічев І.Ф., Павлов С.В., Коваленко С.І., Шабельник К.П.* (Запоріжжя) КОРЕКЦІЯ ПОВЕДІНКОВИХ РЕАКЦІЙ ЩУРІВ, ЯКІ ПІДДАВАЛИСЬ ХРОНІЧНОМУ СТРЕСУ, ПОХІДНИМИ ХІНАЗОЛІНУ (ПК-66), ЕМОКСИПІНОМ ТА СЕМАКСОМ 91
- Локай Б.А.* (Тернопіль) ПОРУШЕННЯ ТА КОРЕКЦІЯ ОБМІНУ АДЕНІННУКЛЕОТИДІВ У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ПРИ ОТРУЄННІ БІДОЮ ПОГАНКОЮ 95
- Дмитрієвський Д.І., Передерій Є.О., Катаєва О.О.* (Харків, Луганськ) РОЗРОБКА МЕТОДИК СТАНДАРТИЗАЦІЇ ВАГІНАЛЬНИХ СУПОЗИТОРІЇВ ІЗ ГЛЮКОРИБІНОМ 98
- КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ**
- Охрімченко С.М.* (Харків) РЕГУЛЯЦІЯ АКТИВНОСТІ ТИРОЗИНАМІНОТРАНСФЕРАЗИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ 105
- Березнякова Н.Л., Попов С.Б.* (Харків) ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ФЛУПРОПІОНАТУ НА АКТИВНІСТЬ СИРОВАТКОВИХ ФЕРМЕНТІВ ТА ВМІСТ ЗАГАЛЬНОГО БІЛКА КРОВІ У ЩУРІВ З АД'ЮВАНТИМ ПОЛІАРТРИТОМ 109
- Куліш С.М., Книш Є.Г., Панасенко О.І.* (Запоріжжя) АЛКІЛУВАННЯ, АРИЛЮВАННЯ І ГЕТЕРИЛЮВАННЯ 5-(ПІРИДИН-2-ІЛ)-4-Р-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОНІВ ТА ЇХ БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ 112
- Доля В.С., Доля Є.В., Нестерович Я.М.* (Запоріжжя, Тернопіль) ВМІСТ СЕРОТОНІНУ В КРОВІ ХВОРИХ НА ЕПІЛЕПСІЮ 115
- Грицик Л.М., Бензель Л.В., Нектегаєв І.О.* (Івано-Франківськ) ВИВЧЕННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ЕКСТРАКТІВ ПІДЗЕМНИХ ТА НАДЗЕМНИХ ОРГАНІВ КРЕМЕНИ ГІБРИДНОЇ 118
- Демидяк О.Л., Саска І.В., Марчишин С.М.* (Тернопіль) ВИЗНАЧЕННЯ ЕЛЕМЕНТНОГО СКЛАДУ СУЦВІТТЯ РОСЛИН РОДУ АРНІКА 121
- Шепелев А.Є.* (Суми) ВПЛИВ ФАКТОРІВ ЗОВНІШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА СУМСЬКОЇ ОБЛАСТІ НА МІНЕРАЛЬНИЙ СКЛАД ДОВГИХ КІСТОК ЩУРІВ У КОМБІНАЦІЇ ІЗ СТАТИЧНИМИ ФІЗИЧНИМИ НАВАНТАЖЕННЯМИ 124
- Комаревцева І.О., Клімочкіна О.М.* (Луганськ) АКТИВАЦІЯ ОPIOЇДНИХ РЕЦЕПТОРІВ ТА РІВЕНЬ ІНДУКОВАНОГО АПОПТОЗУ В КУЛЬТУРІ МОНОНУКЛЕАРНИХ КЛІТИН 127
- Марущак М.І., Андрейчин С.М.* (Тернопіль) МАРКЕРИ ФОРМУВАННЯ І МЕТАБОЛІЗМУ КІСТОК У ХВОРИХ З ХРОНІЧНОЮ СЕРЦЕВОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ 130
- Сидоренко В.О., Дасюк Т.Є., Рак Г.В.* (Львів) ЗАСТОСУВАННЯ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ, ЩО СТИМУЛЮЮТЬ ПРОЦЕСИ ІМУНІТЕТУ, В КОМПЛЕКСНІЙ ТЕРАПІЇ УРОГЕНІТАЛЬНИХ ІНФЕКЦІЙ 133
- Shved M.I., Mazur L.P., Martynuk L.P.* (Ternopil) DIABETIC DYSLIPIDAEMIA: ITS ROLE IN THE ATHEROSCLEROSIS PROGRESSION AND PECULIARITIES DEPENDING ON THE LIPID PEROXIDATION CONDITION AND COMPENSATION GRADE OF DIABETES MELLITUS
- Kovalenko D.S., Omeljanchik L.O., Brazhko O.A.* (Zaporizhzhia) COMPUTER FORECASTING OF POSSIBLE KINDS OF BIOLOGICAL ACTIVITY 1,2,4-TRIAZOLO[4,3-A]QUINOLINES
- Sybirna N.O., Barska M.L., Brodyak I.V.* (Lviv) STUDY OF CARBOHYDRATE DETERMINANTS OF GLYCOPROTEIN RECEPTORS OF NEUTROPHIL GRANULOCYTES IN PATIENTS WITH TYPE 1 DIABETES MELLITUS
- Belenichev I.F., Pavlov S.V., Kovalenko S.I., Shabelnyk K.P.* (Zaporizhzhia) CORRECTION OF BEHAVIOUR REACTIONS OF RATS, WHICH HAVE BEEN UNDERGONE CHRONIC STRESS, BY QUINAZOLINE DERIVATIVES (PK-66), EMOXIPINE AND SEMAXE
- Lokay B.A.* (Ternopil) DISORDERS AND CORRECTION OF ADENINNUCLEOTIDE METABOLISM IN RAT LIVER UNDER CONDITIONS OF AMANITA PHALLOIDES INTOXICATION
- Dmytrievsky D.I., Perederiy Ye.O., Katayeva O.O.* (Kharkiv, Luhansk) DEVELOPMENT OF STANDARDIZATION METHODS FOR VAGINAL SUPPOSITORIES WITH GLUCORIBIN
- BRIEF REPORTS**
- Okhrimenko S.M.* (Kharkiv) REGULATION OF LIVER TYROSINE AMINOTRANSFERASE ACTIVITY IN RAT UNDER OXIDATIVE STRESS
- Bereznyakova N.L., Popov S.B.* (Kharkiv) EXPERIMENTAL STUDY OF FLUPROPYONAT INFLUENCE ON SERUM ENZYME ACTIVITY AND CONTENTS OF GENERAL BLOOD ALBUMEN IN RATS WITH ADJUVANT POLYARTHRITIS
- Kulish S.M., Knysh Ye.H., Panasenko O.I.* (Zaporizhzhia) ALKALIZATION, ARILIZATION AND HETERILIZATION OF 5-(PYRIDIN-2-YL)-4-R-1,2,4-TRIAZOLE-3-THIONS
- Dolya V.C., Dolya Ye.V., Nesterovych Ya.M.* (Zaporizhzhia, Ternopil) BLOOD CONTENTS OF SEROTONIN IN EPILEPSY PATIENTS
- Hrytsyk L.M., Benzel L.V., Nektgayev I.O.* (Ivano-Frankivsk) STUDY OF ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF EXTRACTS FROM UNDERGROUND AND OVERGROUND ORGANS OF PETASITES HYBRIDUS
- Demydyak O.L., Saska I.V., Marchyshyn S.M.* (Ternopil) STUDY OF ELEMENT COMPOSITION OF FLOSCULES AT THE PLANTS OF ARNICA FAMILY
- Shepelev A.Y.* (Sumy) INFLUENCE OF ENVIRONMENTAL FACTORS OF SUMY REGION ON MINERAL STRUCTURE OF LONG BONES IN COMBINATION WITH STATIC PHYSICAL LOADING
- Komarevtseva I.O., Klimochkina O.M.* (Luhansk) ACTIVATION OF OPIOID RECEPTORS AND INDUCTIVE APOPTOSIS LEVEL IN MONONUCLEAR CELL CULTURE
- Marusthak M.I., Andreychyn S.M.* (Ternopil) BONE FORMATION AND METABOLISM MARKERS IN THE PATIENT WITH CHRONIC HEART FAILURE
- Sydorenko V.O., Dasyuk T.Y., Rak G.V.* (Lviv) APPLICATION OF IMMUNE-STIMULATING MEDICINES IN THE COMPLEX THERAPY OF UROGENITAL INFECTIONS

АНТИОКСИДАНТНА ТА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНА АКТИВНІСТЬ ДЕЯКИХ ПОХІДНИХ (3Н)-ХІНАЗОЛІН-4-ТІОНУ ТА [1,2,4]ТРИАЗОЛО[1,5-с]-ХІНАЗОЛІН-2-ТІОНУ

Ю.І. Губський, І.Ф. Беленічев¹, С.І. Коваленко¹, Є.Л. Левицький, В.О. Нікітін¹, О.В. Карпенко¹, О.М. Марченко, А.І. Авраменко¹, С.В. Павлов¹, Л.М. Антипенко¹ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ¹

Проведені дослідження антиоксидантної активності похідних (3Н)-хіназолін-4-тіону (НКС-153, NC-109), [1,2,4]триазоло[1,5-с]-хіназолін-2-тіону (ТХ-27) показали, що синтезовані сполуки проявляють антиоксидантну активність на моделях ініціювання вільнорадикального окиснення *in vitro*, перевищуючи або конкуруючи з еталонами порівняння.

Введення досліджуваних сполук NC-109, ТХ-27 та НКС-153 (50 мг/кг) і препарату "Тіотриазолін" (50 мг/кг) призводило до зменшення явищ інтоксикації та підвищення антиоксидантного захисту організму щурів з токсичним ураженням печінки. Порівняльний аналіз біологічної дії похідних (3Н)-хіназолін-4-тіону (НКС-153, NC-109), [1,2,4]триазоло[1,5-с]-хіназолін-2-тіону (ТХ-27) і препарату "Тіотриазолін" показав, що найбільш активними серед зазначених похідних є НКС-153 і NC-109, які достовірно перевищують за антиоксидантним та гепатопротективним ефектами препарату "Тіотриазолін".

КЛЮЧОВІ СЛОВА: сірковмісні хіназоліни, токсичне ураження печінки, антиоксидантна та гепатопротективна активність.

ВСТУП. Тяжкі захворювання печінки, як генетично детерміновані, так і набуті, часто загрожують життю і різко знижують його повноцінність. Численні дослідження у біохімії та патофізіології свідчать про широку розповсюдженість у загальній патології вільнорадикального окиснення (ВРО) клітинних мембран, причому надлишкова активація цього процесу відіграє ключову роль у пошкодженні клітини, а накопичення продуктів ВРО призводить до значних додаткових порушень в організмі та посилення ендотоксикозу. Незважаючи на всі досягнення останніх років, клінічна практика не може обійтись без медикаментозної профілактики і терапії печінкової недостатності. До лікарських препаратів, які покращують мікроциркуляцію при захворюваннях печінки, відносять реополіглюкін, трентал, галідор та но-шпу. Особливе значення для хворих, які страждають від поліорганної недостатності, має використання препаратів широкого спек-

тра дії, які можуть проявляти антиоксидантний ефект. До таких препаратів належать вітаміни С, Е, РР, солкосерил (містить цистеїн, орнітин), кефзол (антибіотик з дуже високою антиоксидантною активністю), піпільфен (антигістамінний препарат). З огляду на це, пошук нових лікарських препаратів з антиоксидантним механізмом дії, які б пригнічували активацію процесів ВРО при захворюваннях печінки, відновлювали її функції та усували симптоми ендогенної інтоксикації організму, на сьогодні є актуальною проблемою.

Метою даної роботи є дослідження антиоксидантної і гепатопротективної дій нових похідних (3Н)-хіназолін-4-тіону та [1,2,4]триазоло[1,5-с]-хіназолін-2-тіону та їх порівняльна характеристика з відомим лікарським препаратом гепатопротективної дії "Тіотриазолін", який, як і зазначені сполуки, містить у собі екзоциклічну сірку.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктом дослідження був ряд похідних (3Н)-хіназолін-4-тіону (НКС-153, NC-109) та [1,2,4]триазоло[1,5-

© Ю.І. Губський, І.Ф. Беленічев, С.І. Коваленко, Є.Л. Левицький, В.О. Нікітін, О.В. Карпенко, О.М. Марченко, А.І. Авраменко, С.В. Павлов, Л.М. Антипенко, 2006.

с]-хіназолін-2-тіону (ТХ-27), синтезованих на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету (зав. кафедрою проф., д-р фарм. наук І.А. Мазур).

Оцінку АОА сполук у досліджах *in vitro* проводили на моделях неферментативного та ферментативного ініціювання ВРО [4]. Про інтенсивність процесів ВРО у хроматині, індукованих НАДФН та аскорбатом, судили за швидкістю накопичення одного з кінцевих продуктів ВРО – малонового діальдегіду (МДА) та його похідних. Для визначення швидкості накопичення МДА у фракціях хроматину в НАДФН-(НЗП) та аскорбатіндукованих (АЗП) системах ВРО, а також у неіндукованому контролі (НК) використовували метод [2, 3, 5, 9] з деякими модифікаціями. Розрахунок проводили за коефіцієнтом молярної екстинкції $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Результати виражали в нмоль/мг білка хроматину. Значення НЗП та АЗП одержували шляхом віднімання від сумарної величини значення концентрації МДА в неініційованому контролі. Розраховували також значення чутливої до нагрівання складової НЗП Δ шляхом віднімання від сумарної величини НЗП значення активності, що залишається після кип'ятіння зразків протягом 7 хв.

Дослідження гепатопротективної активності проведено на щурах лінії Вістар масою 200-220 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. У процесі роботи використано 36 тварин. Їх було поділено на 6 груп: 1-ша – інтактні тварини; 2-га – тварини з токсичним ураженням печінки (контрольна група), токсичне ураження печінки (ТУП) викликали шляхом введення 50 % масляного розчину тетрахлорметану (ТХМ) у дозі 1 мл на 100 г маси тіла експериментальних щурів 2 рази на добу протягом 3 днів; 3-тя – тварини з ТУП, яким вводили NC-109; 4-та – тварини з ТУП, яким вводили ТХ-27; 5-та – тварини з ТУП, яким вводили НКС-153; 6-та – тварини з ТУП, яким вводили відомий гепатопротекторний та антиоксидантний препарат "Тіотриазолін" [10]. Сполуки NC-109, ТХ-27, НКС-153 та препарат "Тіотриазолін" вводили у дозах 50 мг/кг внутрішньоочеревинно за годину перед введенням ТХМ.

Тварин виводили з експерименту через 24 год після останнього введення ТХМ під етамінал-натрієвим наркозом (40 мг/кг). Дослідження функціонального стану антиоксидантної системи проводили шляхом визначення активності каталази у плазмі крові (ПК) та гомогенаті печінки (ГП) [8], концентрації стабільних метаболітів NO [14, 16], а також за ступенем окисної модифікації білків (ОМБ) [13, 15] як одних з ранніх маркерів ВРО в організмі.

Оцінювали ендogenous інтоксикацію організму шляхом визначення активності маркерних ферментів аспарагінамінотрансферази (АсАТ), аланінамінотрансферази (АлАТ) та за тимоловою пробою у ГП [11]. Результати досліджень піддавали статистичному аналізу [7].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У ході раніше проведених досліджень антирадикальної активності (АРА) нами встановлено, що досліджувані сполуки є ефективними "пастками" для вільних радикалів при різних методах їх моделювання *in vitro* [6]. Важливо також відзначити, що сполуки НКС-153, NC-109, ТХ-27 перевищують активність препарату "Тіотриазолін", який проявляє антиоксидантні та гепатопротективні властивості [10], а NC-109, крім цього, перевищує активність дибунолу на 8,18 %.

Маючи зазначений фактичний матеріал щодо АРА, ми поставили мету вивчити вплив вказаних сполук на процеси ферментативного і неферментативного ініціювання ВРО методами *in vitro*. Результати досліджень, наведені у таблиці 1, показали, що досліджувані сполуки НКС-153, ТХ-27, NC-109 проявляють АОА на моделі як ферментативного, так і неферментативного ініціювання ВРО.

Найактивнішою сполукою на зазначених моделях ініціювання виявилася НКС-153, яка перевищує активність еталонів порівняння дибунолу та унітіолу на 9,9 і 49,4 % відповідно. Крім того, НКС-153 була більш ефективною порівняно з препаратом "Тіотриазолін" на моделі неферментативного ініціювання ВРО.

Наступним етапом досліджень було вивчення АОА сполук НКС-153, NC-109, ТХ-27 за показниками швидкості накопичення МДА на моделі неініційованого та індукованого ВРО в ізольованих мембранах ендоплазматичного ретикулула (ЕР) клітин печінки інтактних щурів [2]. Вплив похідних хіназоліну на швидкість накопичення продуктів окиснення досліджували у концентраціях 10^{-5} - 10^{-3} М у системах НК, АЗП та НЗП. Вибіркове тестування сполук у концентрації 10^{-5} М не продемонструвало наявності антиокиснювальних властивостей у жодної з них, а спостерігалось лише незначне зменшення швидкості накопичення продуктів ВРО у препаратів порівняння – іонолу та α -токоферолу, а тіотриазолін у цій концентрації був неефективним (табл. 2).

При тестуванні сполук у концентрації на рівні 10^{-4} М спостерігалася тенденція до зниження утворення продуктів окиснення за умов НК, АЗП та НЗП (див. табл. 2). Так, сполуки НКС-153, ТХ-27 у зазначеній концентрації

призводили до зменшення швидкості накопичення МДА тільки при АЗП та НЗП. Слід зауважити, що за умов даної моделі тіотриазолін впливав на швидкість накопичення продуктів ВРО лише при НК та у найвищій концентрації.

Таким чином, у скринінгових дослідженнях на моделі спонтанного та індукованого ВРО у мембранах ЕР печінки щурів показано, що досліджувані сполуки проявляли помірну АОА. Важливо те, що за АОА сполуки НКС-153, ТХ-27 перевищували тіотриазолін і поступалися

еталонним антиоксидантам на моделі індукованого ВРО.

АОА синтезованих сполук також вивчали за умов *in vitro* на ізольованих фракціях ядерного хроматину (репресованого – РХ та транскрапційно активного – ТАХ) клітин печінки інтактних та отруєних ТХМ щурів. Із результатів досліджень видно (табл. 3), що у репресованому хроматині інтактних тварин сполука НКС-153 інгібувала майже на 34 % швидкість накопичення МДА у системі НК, перевищуючи при цьому активність еталонних антиоксидантів та

Таблиця 1 – Антиоксидантна активність синтезованих сполук у дослідях *in vitro*

Сполуки*	Ферментативне ініціювання		Неферментативне ініціювання	
	МДА, ммоль/мл	АОА, %	МДА, ммоль/мл	АОА, %
Інтакт	0,50±0,01	–	0,56±0,01	–
Контроль	1,85±0,01	–	4,76±0,02	–
НС-109	1,74±0,01	5,94	4,03±0,03	15,34
ТХ-27	1,63±0,01	11,89	4,60±0,02	3,36
НКС-153	1,20±0,01	35,1	1,52±0,01	68,0
Контроль	4,92±0,14	–	–	–
Дибунол	3,68±0,05	25,2	–	–
α-Токоферолу ацетат	4,42±0,12	10,16	–	–
Контроль	–	–	1,23±0,04	–
Тіотриазолін	–	–	0,57±0,03	53,65
Метіонін	–	–	1,03±0,042	16,2
Унітіол	–	–	1,00±0,066	18,6

Примітка. * – дибунол, α-токоферолу ацетат, тіотриазолін, метіонін, унітіол додавали у дозах 3,0; 2,5; 0,6, 0,76; 0,76 мкМ, сполуки НС-109, ТХ-27, НКС-153 вводили у дозах 10⁻⁷ М відповідно до моделей ініціювання ВРО.

Таблиця 2 – Вплив досліджуваних сполук на швидкість накопичення МДА ізольованими мембранами ЕР печінки інтактних щурів (% до контролю)

Сполуки, 10 ⁻⁴ М	Системи ВРО		
	НК	АЗП	НЗП
Контроль	100	100	100
НС-109	104,2	105,3	100,8
ТХ-27	108,46	89,29	90,2
НКС-153	102,4	99,24	98,50
Дибунол	58,98*	30,95*	50,60*
Тіотриазолін	85,73	103,59	101,21
α-Токоферол	52,54*	40,46*	53,21*

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

Таблиця 3 – Визначення швидкості накопичення МДА у фракціях хроматину печінки інтактних щурів при додаванні досліджуваних сполук у концентрації 10⁻⁵ (*in vitro*, у % до контролю)

Показники	РХ						
	Контроль	Дибунол	Тіотриазолін	α-Токоферол	НКС-153	ТХ-27	НС-109
НЗП	100,00	83,68	81,63	86,94	83,63	90,92	107,68
НЗП, Δ	100,00	87,48	84,79	87,09	82,76	91,34	110,93
АЗП	100,00	81,94	101,52	84,02	76,17	110,23	98,70
НК	100,00	74,03	81,38	78,11	65,99	90,20	101,17
ТАХ							
НЗП	100,00	85,35	89,06	81,65	83,82	86,93	96,45
НЗП, Δ	100,00	82,29	89,84	82,81	78,13	88,80	95,05
АЗП	100,00	78,12	94,15	100,00	115,27	144,53	174,81
НК	100,00	81,56	74,28	67,01	84,94	102,54	70,39

тіотриазоліну. Важливо відзначити, що сполука НКС-153 перевищувала активність еталонів порівняння при АЗП та конкурувала з ними при НЗП (див. табл. 3).

У ТАХ при НЗП активність виявляли сполуки НКС-153 і препарат порівняння α -токоферол (інгібування ВРО на 16,2 і 18,5 % відповідно), тоді як інші досліджувані сполуки виявились менш ефективними. Проте НКС-153 поступалася за своєю активністю еталонам порівняння у системах НК та АЗП. Необхідно також відмітити, що у системі НК у ТАХ значну активність проявляла сполука НС-109, яка перевищувала активність (інгібування ВРО на 29,6 %) дибунолу та тіотриазоліну і достовірно не поступалася α -токоферолу за швидкістю гальмування накопичення МДА.

У фракції РХ щурів з токсичним ураженням печінки у системі НЗП найбільшу активність проявляли α -токоферол і дибунол, але і сполука ТХ-27 інгібувала на 9,7 % швидкість накопичення МДА, перевищуючи при цьому активність тіотриазоліну (табл. 4). При АЗП найактивнішими виявились дибунол і тіотриазолін (інгібування ВРО на 23,2 і 24,3 % відповідно). Сполука НКС-153 була найактивнішою у системі НК ВРО, зменшуючи швидкість накопичення МДА на 18,07 % відносно контролю.

У фракції ТАХ щурів з ТУП у системі НЗП найбільшу активність виявляла сполука НКС-153, тоді як інші досліджувані сполуки були менш ефективними (див. табл. 4). Важливо відмітити, що НКС-153 не поступалася за своєю активністю еталонам порівняння у системах АЗП та НК окиснення.

Таким чином, у скринінгових дослідженнях на моделі *in vitro* на ізольованих фракціях ядерного хроматину (РХ та ТАХ) клітин печінки інтактних та отруєних ТХМ щурів показано, що сполука НКС-153 за своєю активністю не поступалася тіотриазоліну та дибунолу, а за деякими показниками конкурувала з α -токоферолом. Натомість, сполуки НС-109 і ТХ-27 також впливали на швидкість накопичення МДА, проявляючи при цьому помірну активність.

При моделюванні експерименту за умов *in vivo* нами досліджено виживання тварин у різні терміни експерименту. Так, результати показали (табл. 5), що в групі щурів з ТУП (контрольна група) виживання складало 50 % на 3 добу експерименту. Досліджувані сполуки проявили виражену гепатопротективну дію. Так, при введенні НКС-153 і тіотриазоліну виживання щурів з патологією становило 83,3 %, тоді як введення сполук НС-109 та ТХ-27 призводило до повного виживання експериментальних тварин на 3 добу.

Проведені біохімічні дослідження показали, що у тварин з ТУП активувалися процеси ВРО, зокрема відзначалося підвищення концентрації 2,4-динітрофенілгідразонів (ФГ) і 2,4-динітрофенілгідразидів (ФГД) у ПК як при спонтанній ОМБ у 2,26 і 1,84 раза відповідно, так і при ініційованій ОМБ у 1,99 і 2,54 раза відносно інтактної групи (табл. 6). Крім того, при ОМБ відбувалося інтенсивне утворення низькомолекулярних компонентів ($\lambda=254, 272, 280$ нм) у ПК як при спонтанному, так і при ініційованому процесі ВРО порівняно з інтактом (табл. 6). Введення тваринам тіотриазоліну та досліджуваних сполук НС-109, ТХ-27 і НКС-153 призводило до достовірного зниження концентрації стабільних метаболітів ФГ, ФГД і ступеня дефрагментації білка у ПК. Найбільш позитивні зміни відбувались у експериментальних групах щурів, які отримували сполуки НС-109 і НКС-153. Так, зазначені сполуки перевищували активність еталону порівняння тіотриазоліну при спонтанному та ініційованому ОМБ.

При ОМБ також активувалися процеси ВРО у ГП щурів, уражених ТХМ, насамперед підвищувалася концентрація ФГ та ФГД (табл. 7). Так, концентрація ФГ і ФГД при спонтанному ОМБ зростала у 3,96 і 3,99 раза, а при ініційованому процесі – у 2,19 і 3,15 раза відповідно. Окрім того, вільні радикали суттєво впливали на ступінь дефрагментації білка у ГП, тобто при ОМБ відбувалося інтенсивне утворення низькомолекулярних компонентів ($\lambda=254, 272, 280$ нм) як при ініційованому, так і при спонтанному процесі порівняно з інтактом (табл. 7). Введення до ГП за умов ОМБ досліджуваних сполук НС-109, ТХ-27 і НКС-153 та тіотриазоліну призводило до зниження рівня ФГ та ФГД і, що важливо, ступеня дефрагментації білка. Найбільшу АОА проявляли сполуки НС-109 і НКС-153, достовірно перевищуючи активність тіотриазоліну за більшістю показників.

ТУП супроводжувалася стійким порушенням метаболізму гепатоцитів (див. табл. 2). Такі зміни метаболізму призводили до активації АФК, гальмування антиоксидантного ферментативного комплексу і подальшої активації вільнорадикальних процесів. Зокрема, при зазначеній патології зменшувалася активність каталази у ПК та ГП у 2,57 і 4,9 раза відповідно до інтакту (табл. 8). Синтезовані сполуки НС-109, ТХ-27 і НКС-153 та тіотриазолін проявляли нормалізуючий вплив на активність каталази. Нами відмічено зростання активності каталази у ПК та ГП після введення сполуки НС-109 на 62,56 і 156,46 % відповідно до контролю (див. табл. 8). Важливо відмітити, що за зростанням

Таблиця 4 – Визначення швидкості накопичення МДА у фракціях хроматину печінки отруєних ТХМ щурів при додаванні досліджуваних сполук у концентрації 10^{-5} (in vitro, у % до контролю)

Показники	РХ						
	Контроль	Дибунол	Тіотриазолін	α -Токоферол	НКС-153	ТХ-27	НС-109
НЗП	100,00	83,98	92,04	87,40	92,62	90,33	92,94
НЗП, Δ	100,00	85,36	93,12	88,20	94,82	92,48	95,94
АЗП	100,00	76,82	75,71	100,11	96,87	94,08	91,91
НК	100,00	104,60	88,66	88,40	81,93	114,07	125,15
	ТАХ						
НЗП	100,00	91,28	91,87	92,97	90,29	98,28	99,41
НЗП, Δ	100,00	93,57	96,62	94,54	92,25	100,10	101,56
АЗП	100,00	69,75	73,81	78,75	82,39	71,50	107,38
НК	100,00	88,39	77,94	76,62	71,63	97,61	115,60

Таблиця 5 – Вживання тварин з ТУП

Групи тварин	Всього тварин	Вживання тварин на 3 доби експерименту	
		Кількість від загального числа	% від загального числа
Тварини з ТУП (контроль)	6	3	50,0
Тварини з ТУП+тіотриазолін	6	5	83,33
Тварини з ТУП+НКС-153	6	5	83,33
Тварини з ТУП+НС-109	6	6	100,0
Тварини з ТУП+ТХ-27	6	6	100,0

активності каталази у ПК та ГП сполука НС-109 перевищувала активність тіотриазоліну на 14,78 і 76,17 % відповідно, а сполуки ТХ-27 та НКС-153 конкурували з еталоном порівняння (див. табл. 8). Імовірно, сполуки захищають фермент від витрати і беруть на себе функцію екзогенних антиоксидантів, активно знешкоджуючи АФК, які утворилися внаслідок активації процесів ВРО в ураженому організмі. Дане твердження також узгоджується з даними дослідження зазначених сполук на моделях in vitro.

Крім того, нами була досліджена роль NO в ініціації ВРО, оскільки відомо [14-16], що даний месенджер є безпосереднім учасником ушкодження гепатоцитів. З даних, наведених у таблиці 8, видно, що при ТУП збільшувалася концентрація стабільних метаболітів NO як у ПК, так і ГП у 3,92 і 3,79 раза відповідно до інтакту. Цікавим є той факт, що введення досліджуваних сполук НС-109, ТХ-27 і НКС-153 та тіотриазоліну призводило до значного зменшення вмісту стабільних метаболітів NO. З досліджених сполук більш виражена дія спостерігалася у ТХ-27, яка знижувала концентрацію стабільного метаболіту NO у ПК та ГП у 2,61 і 2,94 раза відповідно до контролю і перевищувала активність тіотриазоліну в 2,14 і 2,46 раза. Незначно за ефективністю ТХ-27 поступались сполуки НС-109 та НКС-153, які також достовірно перевищували активність тіотриазоліну.

Оцінка ендогенної інтоксикації організму показала, що після ТУП значно підвищувалася активність маркерних ферментів амінотрансфераз та показники тимолової проби (див. табл. 8). Введення досліджуваних сполук НС-109, ТХ-27 і НКС-153 та тіотриазоліну, як і у випадку стабільних метаболітів NO, призводило до позитивного впливу на активність амінотрансфераз (АсАТ, АлАТ) та тимолову пробу. Так, при введенні сполук відбувалося достовірне зниження активності АсАТ у 1,76-4,69 раза, АлАТ – у 2,43-3,03 раза і показників тимолової проби – у 2,15-3,59 раза у ГП.

На основі результатів експерименту можна констатувати позитивний вплив досліджуваних сполук при різних скринінгових моделях ініціювання in vitro на показники ВРО. Досліджувані сполуки проявляли виражену АОА (ефективно запобігали утворенню АФК), впливали на швидкість накопичення МДА, знижували ступінь дефрагментації білка і вміст продуктів його окисної модифікації. Крім того, сполуки НКС-153, НС-109, ТХ-27 і тіотриазолін зменшували явища ендогенної інтоксикації та підвищували антиоксидантний захист організму щурів з ТУП.

Таким чином, механізм дії похідних (3Н)-хіназолін-4-тіону (НКС-153, НС-109), [1,2,4]триазоло[1,5-с]-хіназолін-2-тіону (ТХ-27) і тіотриазоліну (морфоліній (5-метил-4Н-[1,2,4]триазол-3-ілсульфаніл)ацетат) можна пояснити їх антиоксидантною дією, тобто здатністю до

інігібування АФК та основних шляхів їх утворення [1, 6], гальмування утворення вільних радикалів жирних кислот і гідроперекисів ліпідів у процесах перекисного окиснення ліпідів, реактивацією антиоксидантних ферментів [1, 10, 12].

ВИСНОВКИ. 1. Проведені дослідження антиоксидантної активності похідних (3Н)-хіназолін-4-тіону (НКС-153, НС-109), [1,2,4]триазоло[1,5-с]-хіназолін-2-тіону (ТХ-27) показали, що синтезовані сполуки проявляють АОА на моделях ініціювання ВРО in vitro, перевищуючи

Таблиця 6 – **ОМБ у плазмі крові (од./г/білка) щурів з ТУП**

Групи тварин	Спонтанна ОМБ			Ініційована ОМБ			Спонтанна ОМБ		Ініційована ОМБ	
	254 нм	272 нм	280 нм	254 нм	272 нм	280 нм	ФГ	ФГД	ФГ	ФГД
Інтактна	0,063± 0,003	0,041 ± 0,002	0,035± 0,004	0,350± 0,009	0,211± 0,007	0,163± 0,008	0,081± 0,005	0,067± 0,003	0,193± 0,005	0,080± 0,004
Тварини з ТУП (контроль)	0,255± 0,01	0,193± 0,015	0,158± 0,028	0,555± 0,024	0,483± 0,03	0,415± 0,027	0,183± 0,009	0,123± 0,008	0,384± 0,010	0,203± 0,009
Тварини з ТУП + НС-109	0,135± 0,004	0,09± 0,002	0,074± 0,005	0,451± 0,032	0,323± 0,005	0,285 ± 0,009	0,105± 0,006	0,085 ± 0,004	0,215 ± 0,015	0,184± 0,013
Тварини з ТУП + ТХ-27	0,155± 0,005*	0,135± 0,002*	0,10± 0,004*	0,511± 0,003*	0,425± 0,004*	0,353± 0,010*	0,154± 0,006*	0,111± 0,005*	0,235± 0,010*	0,195± 0,009*
Тварини з ТУП + НКС-153	0,143± 0,005*	0,10± 0,002*	0,080± 0,004*	0,475± 0,004*	0,371± 0,005*	0,311± 0,008*	0,123± 0,007*	0,10± 0,006*	0,221± 0,009*	0,19± 0,007*
Тварини з ТУП + тіотриазолін	0,150± 0,006*	0,110± 0,002*	0,09± 0,005*	0,521± 0,006*	0,398± 0,003*	0,341± 0,009*	0,138± 0,008*	0,120± 0,005*	0,231± 0,012	0,188± 0,006*

Примітка. * – p<0,05 відносно контролю.

Таблиця 7 – **ОМБ у гомогенаті печінки (од./г/білка) щурів з ТУП**

Групи тварин	Спонтанна ОМБ			Ініційована ОМБ			Спонтанна ОМБ		Ініційована ОМБ	
	254 нм	272 нм	280 нм	254 нм	272 нм	280 нм	ФГ	ФГД	ФГ	ФГД
Інтактна	1,235± 0,129	0,878± 0,031	0,674± 0,043	5,189± 0,118	3,858± 0,103	2,731± 0,141	0,984± 0,042	0,789± 0,035	1,989± 0,080	1,234± 0,033
Тварини з ТУП (контроль)	3,235± 0,150	2,754± 0,154	2,545± 0,143	8,456± 0,317	7,565± 0,149	6,893± 0,151	3,898± 0,135	3,154± 0,153	4,346± 0,180	3,893± 0,153
Тварини з ТУП + НС-109	2,135± 0,133	1,483± 0,030	0,90± 0,063	6,337± 0,215	5,699± 0,133	4,755± 0,121	1,235± 0,111	1,050± 0,101	2,336± 0,070	1,879± 0,041
Тварини з ТУП + ТХ-27	2,890± 0,141*	2,635± 0,133*	2,050± 0,131*	7,558± 0,010*	6,070± 0,125*	5,748± 0,112*	2,135± 0,121*	1,850± 0,121*	3,111± 0,124*	2,411± 0,041*
Тварини з ТУП + НКС-153	2,255± 0,122*	1,688± 0,050*	1,233± 0,10*	6,840± 0,141*	5,955± 0,131*	4,850± 0,113*	1,450± 0,121*	1,220± 0,111*	2,540± 0,10*	2,075± 0,050*
Тварини з ТУП + тіотриазолін	2,655± 0,121*	2,433± 0,10*	1,877± 0,090*	7,211± 0,112*	6,041± 0,131*	5,553± 0,211*	1,970± 0,111*	1,770± 0,113*	2,931± 0,133	2,080± 0,10*

Примітка. * – p<0,05 відносно контролю.

Таблиця 8 – **Гепатопротективна активність синтезованих сполук**

Групи тварин	Каталаза		NO		АсАТ, мМ/лгод	АлАТ, мМ/лгод	Тимолова проба
	ПК, мккат/лгод	ГП, мккат/ мг білкахв	ПК, мкМ/л	ГП, мкМ/г білка			
Інтактна група	5,22±0,07	7,21±0,09	0,12±0,01	0,14±0,01	3,77±0,66	0,22±0,05	0,47±0,02
Тварини з ТУП (контроль)	2,03±0,11	1,47±0,06	0,47±0,01	0,53±0,01	14,6±1,77	0,97±0,08	7,90±0,97
Тварини з ТУП + НС-109	3,3±0,17	3,77±0,11	0,18±0,01*	0,18±0,01*	7,4±0,66	0,37±0,07*	2,20±0,70*
Тварини з ТУП + ТХ-27	2,93±0,07*	2,88±0,01*	0,14±0,01*	0,13±0,01*	8,3±0,70*	0,32±0,06*	3,50±0,60
Тварини з ТУП + НКС-153	2,77±0,06*	2,44±0,01*	0,25±0,02*	0,25±0,01*	3,11±0,76	0,32±0,06*	3,16±0,77
Тварини з ТУП + тіотриазолін	3,00±0,01*	3,66±0,01	0,30±0,02*	0,32±0,01*	5,09±0,71*	0,40±0,07*	3,67±0,67

Примітка. * – p<0,05 відносно контролю.

або конкуруючи при цьому з еталонами порівняння.

2. Вивчено антиоксидантну активність досліджуваних сполук НКС-153, НК-109 і ТХ-27 та тіотриазоліну на моделі неініційованого та індукваного ВРО в ізольованих мембранах ендоплазматичного ретикулула клітин печінки інтактних щурів та виявлено сполуки НКС-153, ТХ-25 з помірною активністю, які за ефектом поступаються дибунолу.

3. Досліджувані сполуки проявляють помірну антиоксидантну активність на ізольованих фракціях репресованого і транскрипційно активного хроматину клітин печінки інтактних та отруєних тетрахлорметаном щурів.

4. Введення досліджуваних сполук НК-109, ТХ-27 та НКС-153 (50 мг/кг) і препарату "Тіотриазолін" (50 мг/кг) за годину до введення тетрахлорметану приводило до зменшення явищ ендогенної інтоксикації та підвищення антиоксидантного захисту організму щурів з токсичним ураженням печінки.

5. Порівняльний аналіз біологічної дії похідних (3Н)-хіназолін-4-тіону (НКС-153, НК-109), [1,2,4]триазоло[1,5-с]-хіназолін-2-тіону (ТХ-27) і препарату "Тіотриазолін" (морфоліній (5-метил-4Н-[1,2,4]триазол-3-ілсульфаніл)ацетат) виявив, що найбільш активними серед зазначених похідних є НКС-153 і НК-109, які достовірно перевищують за антиоксидантним та гепатопротективним ефектами препарат "Тіотриазолін".

ЛІТЕРАТУРА

1. Биленко М.В. Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. – М.: Медицина, 1982. – Т. 6. – С. 195-213.

2. Губський Ю.І., Левицький Є.Л. Перекисно-антиоксидантний механізм регуляції активності хроматину // Журн. АМН України. – 1997. – **3**, № 2. – С. 275-282.

3. Губський Ю.І., Горюшко Г.Г., Бобкова Л.С. та ін. Вивчення взаємозв'язків між антиоксидантними та квантово-механічними характеристиками похідних піридинкарбонових кислот // Вісник фармації. – 2003. – № 1 (33). – С. 11-15.

4. Губський Ю.І., Дунаєв В.В., Беленічев І.Ф. та ін. Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічно активних речовин при ініціюванні вільнорадикальних процесів у дослідах *in vitro* // Метод. реком. – К.: ДФЦ МОЗ України, 2002. – 26 с.

5. Губський Ю.І., Левицький Є.Л., Горюшко Г.Г. и др. Взаємодія нових похідних піридинкарбонових кислот з ізольованими фракціями ядерного хроматину клітин печінки інтактних та отруєних тетрахлорметаном щурів // Совр. пробл. токсикол. – 2002. – № 2. – С. 26-33.

6. Губський Ю.І., Нікітін В.О., Коваленко С.І. та ін. Взаємозв'язок антирадикальної активності із квантово-хімічними та іншими параметрами сірковмісних хіназолінів // Мед. хімія. – 2005. – **7**, № 3. – С. 49-54.

7. Державна Фармакопея України / ДП "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-ше вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – Доповнення 1. –

2004. – 520 с.

8. Королюк М.А. Способ определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.

9. Левицкий Е.Л., Губский Ю.И. Свободнорадикальные повреждения ядерного генетического аппарата клетки // Укр. биохим. журн. – 1994. – **66**, № 4. – С. 18-30.

10. Мазур И.А., Волошин Н.А., Чекман И.С. и др. Тиотриазолин: фармакологические аспекты и клиническое применение. – Запорожье-Львов: НАУТИЛУС, 2005. – 156 с.

11. Меньшиков В.В. Клинико-лабораторная диагностика. – М.: Медицина, 1986. – 325 с.

12. Перекисное окисление липидов в норме и патогенезе различных заболеваний: Сб. научн. трудов / Под ред. М.И. Агаджанова. – Ереван: Астастаран, 1988. – 220 с.

13. Сидорова И.В., Нестерова Н.А., Беленічев И.Ф. и др. Влияние производных 4-гидразинохиназолина на окислительную модификацию белка (ОМБ) в условиях инициирования свободно-радикального окисления (СРО) *in vitro* // Фармаком. – 2004. – № 4. – С. 68-73.

14. Уразаева А.Х., Зефирова А.Л. Физиологическая роль оксида азота // Усп. физиол. наук. – 1999. – № 30 (1). – С. 54-72.

15. Halliwell B. Free Radicals Biology Medicine. – Oxford Press, 1999. – 248 p.

16. Monocada S., Palmer R.M., Higgs E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology // Pharmacol. Rev. – 1991. – **43**. – P. 109-142.

АНТИОКСИДАНТНАЯ И ГЕПАТОПРОТЕКТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ (3H)-ХИНАЗОЛИН-4-ТИОНА И [1,2,4]ТРИАЗОЛО[1,5-с]-ХИНАЗОЛИН-2-ТИОНА

Ю.И. Губский, И.Ф. Беленичев¹, С.И. Коваленко¹, Е.Л. Левицкий, В.А. Никитин¹,
А.В. Карпенко¹, О.Н. Марченко, А.И. Авраменко¹, С.В. Павлов¹, Л.Н. Антипенко¹
ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ
ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ¹

Резюме

Проведенные исследования антиоксидантной активности производных (3H)-хиназолин-4-тиона (НКС-153, NC-109), [1,2,4]триазоло[1,5-с]хиназолин-2-тиона (ТХ-27) показали, что синтезированные соединения проявляют антиоксидантную активность на моделях инициирования свободнорадикального окисления *in vitro*, превышая или конкурируя с эталонами сравнения.

Введение исследуемых соединений НКС-109, ТХ-27 и НКС-153 (50 мг/кг) и препарата "Тиотриазолин" (50 мг/кг) приводило к уменьшению явлений интоксикации и повышению антиоксидантной защиты организма крыс с токсическим поражением печени. Сравнительный анализ биологического действия производных (3H)-хиназолин-4-тиона (НКС-153, NC-109), [1,2,4]триазоло[1,5-с]хиназолин-2-тиона (ТХ-27) и препарата "Тиотриазолин" показал, что наиболее активными среди указанных производных являются соединения НКС-153 и NC-109, которые достоверно превышают по антиоксидантному и гепатопротективному эффектам препарат "Тиотриазолин".

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: серосодержащие хиназолины, токсическое поражение печени, антиоксидантная и гепатопротективная активность.

ANTIOXIDANT AND HEPATOPROTECTIVE ACTIVITY OF SOME (3H)-QUINAZOLINE-4-THIONE AND [1,2,4]TRIAZOLO[1,5-c]QUINAZOLINE-2-THIONE DERIVATIVES

Yu.I. Hubsy, I.F. Belenichev¹, S.I. Kovalenko¹, Y.L. Levytsky, V.O. Nikitin¹, O.V. Karpenko¹,
O.M. Marchenko, A.I. Avramenko¹, S.V. Pavlov¹, L.M. Antypenko¹
INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF AMS OF UKRAINE
ZAPOROZHZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY¹

Summary

Investigations of antioxidant activity of (3H)-quinazoline-4-thione (HKS-153, NC-109) and [1,2,4]triazolo[1,5-c]quinazoline-2-thione (TX-27) derivatives showed that synthesized compounds manifest comparable or enhanced to lead compounds antioxidant activity on models of free radical oxidation initiating *in vitro*.

Introduction of investigated substances (HKS-153, NC-109, TX-27) and reference compound "Thiotriazoline" (50 mg/kg) resulted in significant decrease of intoxication and increase of antioxidant protection in rats with toxic damage of liver. Comparative analysis of biological action of (3H)-quinazoline-4-thione (HKS-153, NC-109) and [1,2,4]triazolo[1,5-c]quinazoline-2-thione (TX-27) derivatives revealed that the most active among mentioned derivatives are HKS-153 and NC-109 which are more potent than reference compound "Thiotriazolin" by antioxidant and hepatoprotective effect.

KEY WORDS: sulfur-containing quinazolines, toxic damage of liver, antioxidant and hepatoprotective activity.

Отримано 06.02.2006 р.

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

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ ПОЛІЕТИЛЕНГЛІКОЛЮ-400 З КОМПОНЕНТАМИ МОЛОКА

Л.І. Петрух, О.П. Панич¹, О.І. Михалик, О.В. Пронюк, М.М. Коваленко
ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ КОНТРОЛЬНИЙ ІНСТИТУТ
ВЕТЕРИНАРНИХ ПРЕПАРАТІВ І КОРМОВИХ ДОБАВОК¹
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. Д. ГАЛИЦЬКОГО

Досліджено in vitro взаємодію поліетиленгліколю-400 (ПЕГ-400) з компонентами натурального молока сирого коров'ячого. Встановлено залежність вмісту найважливіших компонентів молока від концентрації ПЕГ-400.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ПЕГ-400, компоненти молока сирого коров'ячого.

ВСТУП. Поліетиленгліколь-400 (ПЕГ-400) відомий як антидот, що реагує з численними отрутами, передусім з утворенням розчинних у воді сполук поліоксонію [2]. Він належить до гідрофільних неводних розчинників і широко застосовується як допоміжна речовина при виготовленні лікарських форм для місцевого лікування ран. ПЕГ-400 має підвищену осмотичну активність, внаслідок чого абсорбує воду, пасивно дифундує у воду крізь напівпроникну мембрану, а також сприяє вивільненню лікарських речовин [5, 12]. Вивчено механізми впливу ПЕГ-400 на біодоступність діючих речовин з лікарських форм [3].

Нами використано ПЕГ-400 у складі нового антимікробного засобу "Флупетцид", який призначено для профілактики й лікування маститів у корів [10]. Розширення досліджень властивостей ПЕГ-400, його взаємодії з біологічними системами має важливе прогностичне значення для ветеринарної фармацевтичної та клінічної практики, оскільки стосується ефективності препаратів, їх біодоступності, прояву побічних реакцій та впливу на якість продуктів споживання (наприклад, молоко, молочні продукти при фармакотерапії маститів) [9, 11, 12]. Молоко – полікомпонентна кодова біологічна система, в якій усі складові – жири, білки, вуглеводи, ферменти, мікроелементи, солі, кислоти й інші речовини – якнайдосконаліше поєднані Природою для людини і тварин. Потрапляння в молоко інших сполук, наприклад лікарських засобів, допоміжних фармацевтич-

них добавок, неодмінно впливає на біологічну цінність натурального продукту. Основні засади державної політики щодо забезпечення якості й безпеки молока та молочних продуктів для життя і здоров'я населення визначені законом України [6, 7].

Мета роботи – вивчити in vitro взаємодію ПЕГ-400 з компонентами натурального молока сирого коров'ячого.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Фармакотехнологічні дослідження проводять за допомогою аналізатора якості молока "Lactan 1-4 В" (свідоцтво про атестацію МВИ № 2420/230-00 від 21.08.2000). Методика визначення густини молока, масових часток у ньому жиру, білка, сухого знежиреного молочного залишку (СЗМЗ) і доданої води відповідає державному стандарту. Межа допущеної основної абсолютної похибки, згідно з технічними характеристиками, становить: для густини – 0,5 кг/м³; жиру – 0,1 %; білка – 0,15 %; СЗМЗ – 0,15 %; доданої води – 1 %; температури – 1 %. Під час дослідів температура вимірювань коливалась у межах 5-35 °С. Зразки молока отримано з приватних господарств. В експерименті використано ПЕГ-400 фірми "Merck" у семи об'ємах: 0,1...0,5...1,0...1,5...2,0...2,5...3,0 мл. Досліди проведено в літній період із дотриманням вимог Державної Фармакопеї України (розділ 2.2) та Інструкції до експлуатації "Lactan 1-4 В".

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У цій роботі нами вперше виявлено закономірності між різними об'ємами полімерної високомолеку-

© Л.І. Петрух, О.П. Панич, О.І. Михалик, О.В. Пронюк, М.М. Коваленко, 2006.

лярної сполуки і біосистемою та характерні властивості ПЕГ-400 при взаємодії зі складовими молекулами молока за звичайних умов [4].

Встановлено зміну відсоткового вмісту чотирьох основних показників якості молока – жиру, білка, СЗМЗ і доданої води – під дією об'ємів ПЕГ-400, що рівномірно зростають.

Найбільш виражена взаємодія ПЕГ-400 з тригліцеридами, а також вільними жирними кислотами, жиророзчинними вітамінами, каротиноїдами та іншими сполуками (лецитин, кефалін, сфінгомієлін, холестерин, ергостерин, цереброзиди), які входять до складу молока коров'ячого [8]. У результаті утворюється складна динамічна конструкція аддуктів, які збільшують вміст жиру в молоці.

У досліджуваних зразках молока середній вміст жиру становив 4,36 %. З отриманих даних, наведених у таблиці 1, видно, що 0,1 мл ПЕГ-400 дає різницю 1 відносно молока на 0,76 %; 0,5 мл ПЕГ-400 – різницю 2 відносно 0,1 мл ПЕГ-400 на 0,29 %. При наступному рівномірному збільшенні об'ємів ПЕГ-400 на 0,5 мл кількість жиру в модельних біосистемах зростає, відповідно, на 0,51 % (різниця 3). Між величинами є добра кореляція.

Експериментально встановлено приріст жиру при збільшенні об'ємів ПЕГ-400 на 0,5 мл, відповідно, в 3,0; 4,7; 6,3; 8,2; 9,8 рази (табл. 6).

Білки молока – казеїн, альбуміни й глобуліни – біологічно цінні молекули, які відіграють фундаментальну роль у формуванні та підтриманні структури й функцій живих організмів [2]. Хімічно білки взаємодіють з іншими молекулами завдяки вільним групам $-NH_2$, $-COOH$ та пептидному угрупованню $-CO-NH-$.

До складу білків молока входять усі амінокислоти, які містяться у білках різних тканин тварин. У біосистемі вони існують при рН 4-9 як цвітер-іони з іонізованими аміно- та карбоксильною групами. Крім цих двох, до складу

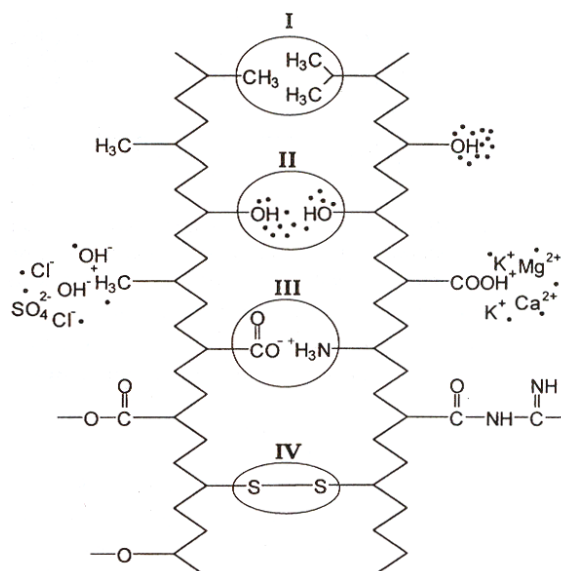


Рис. 1. Типи зв'язків у білковій молекулі:
I – гідрофобна взаємодія неполярних груп;
II – диполь-дипольна взаємодія;
III – електростатична взаємодія;
IV – дисульфідний (ковалентний) зв'язок [2].

деяких амінокислот входять інші групи, здатні до іонізації: одна $-NH_2$, одна $-COOH$, або імідазол, $-OH$, $-SH$ -групи і т. ін. Як і амінокислоти, білкові молекули у водних розчинах заряджені, й величина заряду залежить від типу білка і значення рН. Як показують наші дослідження, масова частка білка у молоці збільшується, очевидно, за рахунок утворення комплексів [білок·ПЕГ-400], стабілізованих іонним, водневим і гідрофобним зв'язками.

Нами отримано такі результати: 0,1 мл ПЕГ-400 дає приріст відносно молока на 0,32 %; 0,5 мл ПЕГ-400 – різницю відносно 0,1 мл ПЕГ-400 на 0,74 %.

Встановлено приріст білка при наступному рівномірному збільшенні об'ємів ПЕГ-400 на 0,5 мл, відповідно, в 2,6; 3,8; 4,9; 6,2; 7,3 рази. Результати досліджень наведено в таблиці 6.

Таблиця 1 – Динаміка зміни вмісту жиру в молоці коров'ячому під дією ПЕГ-400

Полікомпонентні модельні біосистеми	Жир, %	Різниця 1, %	Різниця 2, %	Різниця 3, %
Молоко	4,36	–	–	–
Молоко+0,1 мл ПЕГ-400	5,12	0,76	–	–
Молоко+0,5 мл ПЕГ-400	5,41	1,05	0,29	–
Молоко+1,0 мл ПЕГ-400	5,99	1,63	0,87	0,58
Молоко+1,5 мл ПЕГ-400	6,47	2,11	1,35	0,48
Молоко+2,0 мл ПЕГ-400	6,96	2,60	1,84	0,49
Молоко+2,5 мл ПЕГ-400	7,50	3,14	2,38	0,54
Молоко+3,0 мл ПЕГ-400	7,96	3,60	2,84	0,46
Середнє значення				0,51

Примітка. Наведено середні дані з трьох визначень кожної із 7 полікомпонентних модельних біосистем; різниця 1 – [модельна біосистема мінус молоко]; різниця 2 – [кожна наступна біосистема мінус 0,29]; різниця 3 – [кожна наступна біосистема мінус попередня].

Таблиця 2 – Динаміка зміни вмісту білка в молоці коров'ячому під дією ПЕГ-400

Полікомпонентні модельні біосистеми	Білок, %	Різниця 1, %	Різниця 2, %	Різниця 3, %
Молоко	2,78	–	–	–
Молоко+0,1 мл ПЕГ-400	3,10	0,32	–	–
Молоко+0,5 мл ПЕГ-400	3,84	1,06	0,74	–
Молоко+1,0 мл ПЕГ-400	5,00	2,22	1,90	1,16
Молоко+1,5 мл ПЕГ-400	5,92	3,14	2,82	0,92
Молоко+2,0 мл ПЕГ-400	6,72	3,94	3,62	0,8
Молоко+2,5 мл ПЕГ-400	7,66	4,88	4,56	0,94
Молоко+3,0 мл ПЕГ-400	8,49	5,71	5,39	0,83
Середнє значення				0,93

Примітка. Наведено середні дані з трьох визначень кожної із 7 полікомпонентних модельних біосистем; різниця 1 – [модельна біосистема мінус молоко]; різниця 2 – [кожна наступна біосистема мінус 0,74]; різниця 3 – [кожна наступна біосистема мінус попередня].

Таблиця 3 – Динаміка зміни вмісту СЗМЗ під дією ПЕГ-400

Полікомпонентні модельні біосистеми	СЗМЗ, %	Різниця 1, %	Різниця 2, %	Різниця 3, %
Молоко	8,57	–	–	–
Молоко+0,1 мл ПЕГ-400	9,53	0,96	–	–
Молоко+0,5 мл ПЕГ-400	11,82	3,25	2,29	–
Молоко+1,0 мл ПЕГ-400	15,41	6,84	5,88	3,59
Молоко+1,5 мл ПЕГ-400	18,21	9,64	8,68	2,80
Молоко+2,0 мл ПЕГ-400	20,70	12,13	11,17	2,49
Молоко+2,5 мл ПЕГ-400	23,62	15,05	14,09	2,92
Молоко+3,0 мл ПЕГ-400	26,18	17,61	16,65	2,56
Середнє значення				2,87

Примітка. Наведено середні дані з трьох визначень кожної із 7 полікомпонентних модельних біосистем; різниця 1 – [модельна біосистема мінус молоко]; різниця 2 – [кожна наступна біосистема мінус 2,29]; різниця 3 – [кожна наступна біосистема мінус попередня].

У молоці коров'ячому міститься 8,57 % СЗМЗ. При збільшенні об'ємів ПЕГ-400 на 0,5 мл кількість СЗМЗ у модельних системах зростає, відповідно, в 2,6; 3,8; 4,9; 6,1; 7,3 раза (табл. 6).

Залежність вмісту жиру, білка та СЗМЗ у молоці від різних об'ємів ПЕГ-400 представлено на рисунку 2.

Густина молока – один із найважливіших показників, які характеризують якість молока і дозволяють говорити про його натуральність.

При додаванні 0,1 мл ПЕГ-400 густина молока зростає на 3,6 одиниці (різниця 1). При

збільшенні об'єму ПЕГ-400 (0,5...1,0...1,5...2,0...2,5...3,0 мл) густина молока рівномірно зростає у середньому на 10,3 кг/м³. Залежність зміни густини молока коров'ячого від об'єму ПЕГ-400 представлено на рисунку 3.

При збільшенні об'ємів ПЕГ-400 у модельній системі на 0,5 мл густина молока зростає, відповідно, в 2,6; 3,8; 4,8; 6,1; 7,2 раза (табл. 6).

Для вивчення залежності вмісту води, доданої до молока, від дії об'єму ПЕГ-400, що зростає, готували модельну суміш (20,0 мл молока сирого + 5 мл води дистильованої –

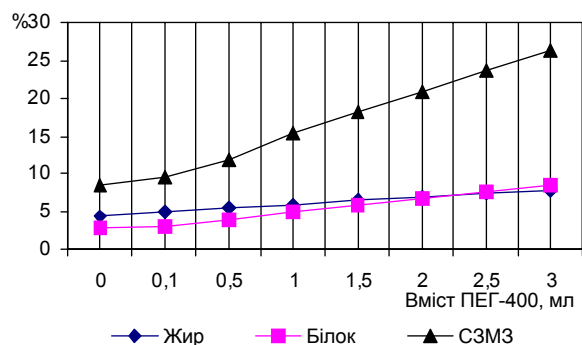


Рис. 2. Динаміка зміни вмісту жиру, білка і СЗМЗ у молоці під дією ПЕГ-400.

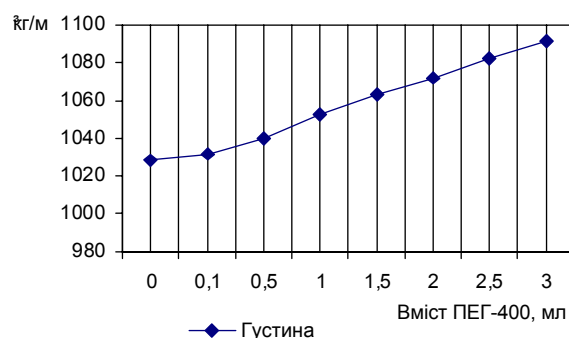


Рис. 3. Динаміка зміни густини молока коров'ячого під дією ПЕГ-400.

Таблиця 4 – Динаміка зміни густини молока коров'ячого під дією ПЕГ-400

Полікомпонентні модельні біосистеми	Густина, кг/мі	Різниця 1, кг/мі	Різниця 2, кг/мі	Різниця 3, кг/мі
Молоко	1028,0	–	–	–
Молоко+0,1 мл ПЕГ-400	1031,6	3,6	–	–
Молоко+0,5 мл ПЕГ-400	1039,9	11,9	8,3	–
Молоко+1,0 мл ПЕГ-400	1052,9	24,9	21,3	13,0
Молоко+1,5 мл ПЕГ-400	1062,9	34,9	31,3	10,0
Молоко+2,0 мл ПЕГ-400	1071,8	43,8	40,2	8,9
Молоко+2,5 мл ПЕГ-400	1082,3	54,3	50,7	10,5
Молоко+3,0 мл ПЕГ-400	1091,4	63,4	59,8	9,1
Середнє значення				10,3

Примітка. Наведено середні дані з трьох визначень кожної із 4 полікомпонентних модельних біосистем; різниця 1 – [модельна біосистема мінус молоко]; різниця 2 – [кожна наступна біосистема мінус 8,3]; різниця 3 – [кожна наступна біосистема мінус попередня].

Таблиця 5 – Динаміка зміни вмісту доданої води в молоці під дією ПЕГ-400

Полікомпонентні модельні біосистеми	Вода додана, %	Різниця 1, %	Різниця 2, %
Суміш А	14,9	–	–
Суміш А+0,1 мл ПЕГ-400	13,0	1,9	–
Суміш А+0,5 мл ПЕГ-400	2,7	12,2	10,3
Суміш А+1,0 мл ПЕГ-400	0,0	0,0	0,0
Суміш А+1,5 мл ПЕГ-400	0,0	0,0	0,0
Суміш А+2,0 мл ПЕГ-400	0,0	0,0	0,0
Суміш А+2,5 мл ПЕГ-400	0,0	0,0	0,0
Суміш А+3,0 мл ПЕГ-400	0,0	0,0	0,0

Примітка. Наведено середні дані з п'яти визначень кожної із 7 полікомпонентних модельних біосистем; різниця 1 – [молоко мінус модельна біосистема]; різниця 2 – [наступна біосистема мінус 1,9].

суміш А). Результати досліджень наведено в таблиці 5.

ПЕГ-400 як гігроскопічний розчинник інтенсивно поглинає воду в біосистемі. Із таблиці 5 видно, що при додаванні до молока сирого коров'ячого 0,1 мл ПЕГ-400 вміст доданої води зменшується одразу ж на 1,9 %; 0,5 мл ПЕГ-400 зв'язує 12,2 % води, тобто вміст води, доданої до молока, знижується в 6,4 раза (12,2:1,9). Встановлено, що 1,0 мл ПЕГ-400 повністю зв'язує 14,9 % води, доданої до молока (рис. 4).

Величини приросту (жир, білок, СЗМЗ, густина молока) та спаду (вода додана) вмісту

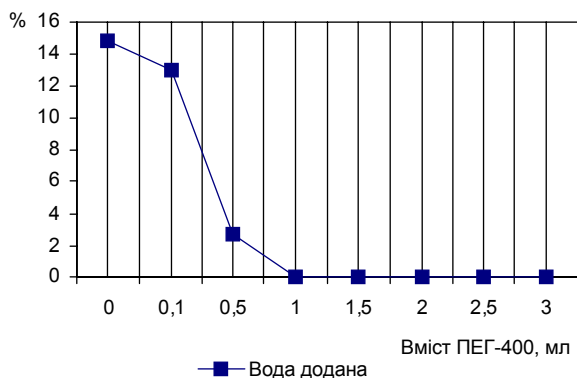


Рис. 4. Динаміка зміни вмісту води, доданої до молока, під дією ПЕГ-400.

в модельних біосистемах розраховано як частку від ділення величини кожної наступної біосистеми (графа "різниця 2") на 0,29 (табл. 1); 0,74 (табл. 2); 2,29 (табл. 3); 8,3 (табл. 4). Частка показує, у скільки разів збільшується вміст компонентів молока при зростанні об'ємів ПЕГ-400 у модельних біосистемах. Результати наведено в таблиці 6.

Порівняльний аналіз даних, наведених у таблиці 6, показує, що внаслідок дії ПЕГ-400 приріст величин білка, СЗМЗ і густини однаково рівномірний у всіх полікомпонентних модельних системах. За результатами досліджень, ПЕГ-400 інтенсивніше зв'язує компоненти жиру в молоці. Ця відмінність очевидна вже при додаванні 0,5 мл ПЕГ-400.

Перехід біосистеми з одного стану в інший внаслідок дії ПЕГ-400 характеризує відношення вихідної величини до вхідної.

Будь-яка біосистема характерна для певних співвідношень компонентів.

Для досліджуваних нами зразків молока коров'ячого співвідношення жир:білок:СЗМЗ становило 1,57:1,00:3,08.

Вплив ПЕГ-400 на співвідношення цих компонентів у молоці та послідовно у досліджуваних модельних біосистемах (МБС 2:1, 3:2, 4:3, 5:4) наведено в таблиці 7.

Таблиця 6 – Порівняння величин приросту та спаду вмісту компонентів молока у модельних біосистемах під дією ПЕГ-400

Полікомпонентні модельні біосистеми	Показники величин приросту і спаду, рази			
	Жир, приріст	Білок, приріст	СЗМЗ, приріст	Густина, приріст
Молоко	–	–	–	–
Молоко+0,1 мл ПЕГ-400	–	–	–	–
Молоко+0,5 мл ПЕГ-400	–	–	–	–
Молоко+1,0 мл ПЕГ-400	3,0	2,6	2,6	2,6
Молоко+1,5 мл ПЕГ-400	4,7	3,8	3,8	3,8
Молоко+2,0 мл ПЕГ-400	6,3	4,9	4,9	4,8
Молоко+2,5 мл ПЕГ-400	8,2	6,2	6,1	6,1
Молоко+3,0 мл ПЕГ-400	9,8	7,3	7,3	7,2

Таблиця 7 – Співвідношення компонентів у молоці та МБС під дією ПЕГ-400

Модельні біосистеми (МБС)	Жир	Співвідношення між МБС	Білок	Співвідношення між МБС	СЗМЗ	Співвідношення між МБС
Молоко	4,36	1,57	2,78	1,00	8,57	3,08
Молоко+0,5 мл ПЕГ-400	1,41	0,89	1,00	1,00	3,08	1,00
Молоко+1,0 мл ПЕГ-400	1,20	0,85	1,00	1,00	3,08	1,00
Молоко+2,0 мл ПЕГ-400	1,04	0,87	1,00	1,00	3,08	1,00
Молоко+3,0 мл ПЕГ-400	1,00	0,96	1,07	1,07	3,29	1,07

Із таблиці 7 видно, що вплив ПЕГ-400 на компоненти жиру в молоці найвиразніший. ПЕГ-400 не порушує співвідношень масових часток білка і СЗМЗ в основній біологічній системі.

Отримані експериментальні дані про особливості фізико-хімічних і фармакологічних властивостей ПЕГ-400 мають значення для ветеринарної фармації.

ВИСНОВКИ. 1. ПЕГ-400 взаємодіє *in vitro* з основними компонентами молока сирого коров'ячого.

2. Вперше виявлено закономірності, які характеризують взаємодію ПЕГ-400 з компонентами молока.

3. Встановлено, що внаслідок дії ПЕГ-400 зростання величин жиру, білка, СЗМЗ і густини молока є однаково рівномірним.

4. Встановлено, що під дією 0,5 мл ПЕГ-400 вміст води, доданої до молока, знижується в 6,4 раза; 1,0 мл ПЕГ-400 зв'язує 14,9 % доданої води.

5. ПЕГ-400 підвищує в'язкість молока.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бокун А.А. Физико-химические свойства и состав молока и крови коров красно-степной породы в норме и при маститах: Дис. ... канд. биол. наук. – Львов, 1979.

2. Гонський Я.І., Максимчук Т.П. Біохімія людини: Підручник. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. – 736 с.

3. Иванов Л.В., Георгиевский В.П. Механизмы влияния фармацевтических вспомогательных веществ на биодоступность // Створення, виробництво, стандартизація, фармакоэкономика лікарських засобів та біологічно активних добавок: Матер. науково-практ. конф. з міжнародною участю. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – С. 362-368.

4. Косенко Ю.М., Темненко С.М. Організація системи фармакологічного нагляду у ветеринарній

медицині України // Створення, виробництво, стандартизація, фармакоэкономика лікарських засобів та біологічно активних добавок: Матер. науково-практ. конф. з міжнародною участю. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – С. 530-532.

5. Ляпунов М.О., Воловик Н.В., Безугла О.П. та ін. Вплив деяких розчинників та карбомерів на властивості гелів // Фармаком. – 2003. – № 3. – С. 55-61.

6. Николаев Л.А. Основы физической химии биологических процессов. – М.: Высшая школа, 1976. – 261 с.

7. Панич О.П., Петрух Л.І., Михалик О.І. Мікробіологічні дослідження нового фармакологічного засобу флупетцид // Науково-технічний бюлетень. – 2005. – Вип. 6. – № 3, 4. – С. 285-288.

8. Про молоко та молочні продукти: Закон Украї-

ни № 1870-IV. – Київ, 24 червня 2004 р.

9. Райхардт Х. Растворители в органической химии. – Ленинград: Химия, 1973. – 150 с.

10. Сандомирский Б.П., Пинсон И.Я., Криворотько И.В., Иванов Л.В. Изучение процессов дегидратации изолированной кожи крыс под дейст-

вием гидрофильных неводных растворителей // Фармаком. – 1998. – № 6. – С. 41-43.

11. Merck, 1992/1993. – Reagenzien, Diagnostica, chemikalien. – S. 1086.

12. Taschenbuch der Krankenhauspharmazie. – Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag, 1985. – 338 s.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ-400 С КОМПОНЕНТАМИ МОЛОКА

Л.И. Петрух, А.П. Паньч¹, О.И. Мыхалык, А.В.Пронюк, М.Н. Коваленко
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ КОНТРОЛЬНЫЙ ИНСТИТУТ
ВЕТЕРИНАРНЫХ ПРЕПАРАТОВ И КОРМОВЫХ ДОБАВОК¹
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. Д. ГАЛИЦЬКОГО

Резюме

Исследовано *in vitro* взаимодействие полиэтиленгликоля-400 (ПЭГ-400) с компонентами натурального молока сырого коровьего. Установлено зависимость содержания наиболее важных компонентов молока от концентрации ПЭГ-400.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **ПЭГ-400, компоненты молока сырого коровьего.**

EXPERIMENTAL INVESTIGATION INTERACTION OF POLYETHYLENE GLYCOL-400 AND MILK COMPONENTS

L.I. Petrukh, O.P. Panych¹, O.I. Mykhalyk, O.V. Pronyuk, M.M. Kovalenko
STATE SCIENTIFIC-RESEARCH CONTROL INSTITUTE OF VETERINARY
PREPARATIONS AND FODDER ADDITIVES¹
LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY

Summary

It was investigated in vitro the interaction of polyethylene glycol-400 (PEG-400) and components of natural fresh cow milk. Dependence of content of basic milk components on PEG-400 concentration was determined.

KEY WORDS: **PEG-400, fresh cow milk components.**

Отримано 05.09.2005 р.

Адреса для листування: Л.І. Петрух, Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, вул. Пекарська, 69, Львів, 79010, Україна.

КАЛЬПАЇНИ В СИСТЕМІ “ПРОТЕЇНАЗА–ІНГІБІТОР ПРОТЕЇНАЗ” У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ХРОНІЧНИМ ОБСТРУКТИВНИМ ЗАХВОРЮВАННЯМ ЛЕГЕНЬ

Л.М. Самохіна, В.В. Єфімов, А.Є. Замазій, Л.С. Воєйкова
ІНСТИТУТ ТЕРАПІЇ ІМ. Л.Т. МАЛОЇ АМН УКРАЇНИ, ХАРКІВ

У пацієнтів із хронічним обструктивним захворюванням легень виявлено зниження активності кальпаїнів, α -2-макроглобуліну, зростання рівня α -1-інгібітора протеїназ, що обумовлено прогресуванням запального процесу і вказує на виведення протеїназ із організму. Зниження активності кальпаїнів у сироватці крові може бути викликано окисненням цистеїну активного центру і призводити до порушень діяльності м'язів, ефективності використання кисню, що пов'язано з розвитком гіпоксемії.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: протеїнази, кальпаїни, α -1-інгібітор протеїназ, α -2-макроглобулін, хронічне обструктивне захворювання легень.

ВСТУП. Кальпаїни (КФ 3.4.22.17) – Ca^{2+} -залежні нейтральні протеїнази, типові внутрішньоклітинні цистеїнові протеїнази з абсолютною потребою в кальції для прояву своєї активності [4, 20]. Кальпаїни виявлено в багатьох типах клітин, зокрема в скелетних м'язах, легенях, еритроцитах, тромбоцитах тощо [16, 23]. У відповідь на збільшення концентрації Ca^{2+} вони здатні здійснювати лімітований протеоліз ферментів, що призводить до змін їх активності, збільшення спорідненості рецепторів з лігандами, змін пластичності мембран клітин, розщеплення міофібрилярних білків, деструкції цитоскелета.

Активация кальпаїнів спостерігається за умов оксидативного стресу, коли підвищується надходження Ca^{2+} в клітину, в результаті окиснювальні процеси можуть поглиблюватися за рахунок перетворення ксантиндегідрогенази в ксантинооксидазу, яка при незворотному переході в оксидазну форму, шляхом лімітованого протеолізу кальпаїнами, починає продукувати супероксид-аніон та пероксид водню [4, 7].

З розвитком оксидативного стресу пов'язане і формування патогенезу хронічного обструктивного захворювання легень (ХОЗЛ), що надає захворюванню системний характер [2]. За умов ХОЗЛ спостерігається ураження не лише легеневої тканини, а і кісткової мускулатури, при цьому хворий втрачає м'язову масу

© Л.М. Самохіна, В.В. Єфімов, А.Є. Замазій, Л.С. Воєйкова, 2006.

і силу, а самі міоцити піддаються вираженим дистрофічним змінам. Вказані зміни призводять до обмеження перенесення фізичного навантаження у пацієнтів з ХОЗЛ через низький анаеробний поріг. При цьому істотно погіршуються показники функції зовнішнього дихання (ФЗД) і газів крові, може виникнути гіпоксемія і навіть гіперкапнія [13]. Хронічна гіпоксія змінює частоту напруженості в діафрагмі, внаслідок чого змінюється сила дихальних м'язів, що призводить до втоми при збільшеній активації м'язів [17]. Кальпаїни беруть участь у обумовлених оксидативним стресом пошкодженнях м'язових тканин [11, 18, 19, 22]. З порушеннями функцій кальпаїнів пов'язують наявність мускульних дистрофій [21].

Кальпаїни причетні до розвитку запальних процесів [14, 22], а на сьогодні серед найбільш актуальних науково-практичних проблем у галузі ХОЗЛ є механізми запалення та контроль за ними [13].

Регуляція активності протеїназ відбувається за участю інгібіторів протеїназ, зокрема α -1-інгібітора протеїназ (α -1-ІП), білка гострої фази запалення, та α -2-макроглобуліну (α -2-МГ) [3].

Мета роботи – визначення ролі кальпаїнів у системі “протеїназа–інгібітор протеїназ” у патогенезі ХОЗЛ.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 20 хворих на ХОЗЛ, з них 10 чоловіків і 10 жінок, середній вік – $(51,5 \pm 1,9)$ року. Контрольна

група - 16 здорових осіб, з них 9 жінок, 7 чоловіків, середній вік – (34,8±1,9) року.

Досліджували до лікування загальну активність протеїназ, кальпаїнів, трипсинінгібіторну активність α -1-ІП, активність α -2-МГ у сироватці крові високочутливим (10^{-9} - 10^{-10} г) ферментативним методом [8, 9, 10].

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

Для визначення трипсинінгібіторної активності α -1-ІП перед протеолітичною реакцією окремо проводили реакцію зв'язування інгібітора з трипсином (8 мкг/мл) протягом 15 хв при 20 °С. Для проведення протеолітичної реакції як субстрат використовували альбумін сироватки бика (БСА).

Для визначення активності Ca^{2+} -залежних нейтральних протеїназ проводили протеолітичну реакцію таким чином: досліджувані зразки вносили в комірки полістиролової плашки з іммобілізованим комплексом пероксидази хрону з БСА в дублікаті, потім до одного додавали CaCl_2 і цистеїн з отриманням кінцевої концентрації 5 мМ, до другого – етилендіамінтетраацетат (ЕДТА) з одержанням кінцевої концентрації 10 мМ. У контрольні зразки вносили розчини трипсину, за якими будували калібрувальний графік. Інкубували при 37 °С протягом 15 хв.

Для визначення рівня α -2-МГ як субстрат протеолітичної реакції використовували протамінсульфат. Після проведення реакції утворення комплексу “протеїназа-інгібітор протеїназ” до реакційної суміші додавали 1:1 за об'ємом соєвий інгібітор трипсину (СІТ) у концентрації 150 мкг/мл та інкубували 5 хв при 37 °С для зв'язування вільних протеїназ. Рівень α -2-МГ у досліджених зразках розраховували за активністю трипсину, зв'язаного з α -2-МГ. Результати виражали в г/л год.

У дослідженнях використовували пероксидазу хрону, хлорид кальцію, цистеїн, БСА, протамінсульфат, ЕДТА, полістиролові плашки стріпові (Росія), СІТ виробництва “Reanal” (Угорщина), трипсин фірми “Spofa” (Чехія) і фотометр-аналізатор імуноферментний Humanreader № 2106-1709 фірми “Human” (Німеччина).

Статистичну обробку отриманих даних проводили за методом Стьюдента–Фішера з використанням програмного забезпечення Excel.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У пацієнтів із ХОЗЛ відзначено істотне зниження активності кальпаїнів на тлі по-різному направлених змін

рівня інгібіторів протеїназ: підвищення α -1-ІП, зниження α -2-МГ (таб. 1). Активність нейтральних протеїназ (загальна протеолітична активність) мала лише тенденцію до зменшення.

Підвищення активності α -1-ІП вказує на наявність гострої фази запалення [3].

Односпрямований характер змін активності нейтральних протеїназ, зокрема кальпаїнів, і α -2-МГ свідчить про виведення комплексів “протеїназа- α -2-МГ” з організму.

У присутності мікромольних концентрацій іонів Ca^{2+} кальпаїни та протеїнкіназа С, що опосередковує функціональну активність кальпаїнів, зв'язуються в нейтрофілах із плазматичними мембранами, в результаті відбувається активація кальпаїнів [1]. Активовані кальпаїни здійснюють лімітований протеоліз різних ізоформ протеїнкінази С з утворенням двох фрагментів: каталітичного і регуляторного. Каталітичний фрагмент перетворюється із Ca^{2+} /фосфоліпідозалежного ферменту в ізоформу, яка не потребує для своєї активності іонів Ca^{2+} та фосфоліпідів. Модифікована форма протеїнкінази С потім вивільняється в цитоплазму та бере участь у регуляції внутрішньоклітинних метаболічних процесів [4].

Кальпаїни здатні гідролізувати Ca^{2+} -залежну фосфодіестеразу циклічних нуклеотидів. При цьому фосфодіестераза зберігає свою активність, проте перестає залежати від кальцію [11]. Результатом цього може бути зниження рівня внутрішньоклітинного цАМФ, що в нейтрофілах запускає механізм респіраторного вибуху [6], посилення оксидативного стресу.

Знижена активність кальпаїнів може бути обумовлена їх витратою при загостренні перебігу захворювання за умов активації окисних процесів, тому що окиснювач здатний модулювати кальпаїніндукований протеоліз шляхом прямого окиснення цистеїну в активному центрі [15]. Активний центр цистеїнових (тіолових) протеїназ містить залишок цистеїну, який легко окислюється пероксидом [3, 11, 15]. Крім того, протеїнкіназа С має структурні елементи, які чутливі до окисних модифікацій [15]. Її N-кінцевий регуляторний домен містить залишки цистеїну, C-кінцевий каталітичний домен також містить декілька активних цистеїнів. Модифікація цих цистеїнів зменшує активність протеїнкінази С, що призводить до зниження активності кальпаїнів.

Зниження активності кальпаїнів у сироватці крові відбувається за умов зменшення можливостей вивільнення кальпаїнів у кров, що може бути пов'язано з порушенням енергоутворення в мітохондріях [12]. Посилення анаеробного гліколізу підвищує концентрацію іонів H^+ , що

Таблиця 1 – Активність протеїназ та їх інгібіторів у сироватці крові пацієнтів із ХОЗЛ

Досліджені групи	Активність нейтральних протеїназ, г/л год	Активність кальпаїнів, г/л год	Трипсин-інгібіторна активність α -1-ІП, г/л год	Активність α -2-макроглобуліну, г/л год
Контроль, n=14	0,015±0,004	0,657±0,105	7,473±0,055	1,581±0,290
ХОЗЛ, n=20	0,010±0,004	0,054±0,007***	7,873±0,013***	0,124±0,024***

Примітка. *** – зміни вірогідні порівняно з контролем ($p < 0,001$).

порушує зв'язування іонів Ca^{2+} через кальцій-рецепторний протеїновий комплекс і в результаті призводить до зниження скорочувальної здатності м'язів. Знижується ефективність кальцієвого насоса саркоплазматичного ретикулума, Na/Ca -обміну. Надлишок кальцію роз'єднує окиснення і фосфорилування в мітохондріях, внаслідок чого знижуються рівень АТФ і ефективність використання кисню. Істотно погіршення показників ФЗД і газів крові, виникнення гіпоксемії за умов ХОЗЛ можуть бути обумовлені цими аспектами [13]. Продукти переокиснення ліпідів та ліпоксигеназного шляху перетворення арахідонової кислоти, що утворюються в надлишковій кількості при дефіциті кисню, можуть, у свою чергу, полегшувати проникнення Ca^{2+} через мембрани за рахунок пошкодження мембранних структур та зміни їх функціонального стану [5]. Гіпоксія призводить до транслокації мембран-

ного кальмодуліну в цитоплазму, в результаті чого в мітохондріях знижується активність Ca^{2+} -АТФ-ази. Це обумовлює підвищення концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+} , внаслідок чого зменшується рівень кальцію у крові, що прямо корелює з активністю кальціезалежних протеїназ – кальпаїнів у сироватці крові.

ВИСНОВКИ. 1. Розвиток ХОЗЛ призводить до змін у системі "протеїназа-інгібітор протеїназ" за рахунок зниження активності кальпаїнів, α -2-МГ, активації α -1-ІП, що обумовлено прогресуванням запального процесу та вказує на виведення нейтральних протеїназ у комплексі з α -2-МГ із організму.

2. Зниження активності кальпаїнів у сироватці крові може бути обумовлено окисненням цистеїну активного центру і призводити до порушень діяльності м'язів, ефективності використання кисню, що пов'язано з розвитком гіпоксемії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Антоняк Г.Л. Роль протеолитических ферментов в функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов // Усп. совр. биол. – 1999. – **119**, № 5. – С. 476-486.

2. Белевский А.С. Глобальная инициатива по ХОБЛ – пересмотр 2003 г. // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2003. – № 4. – С. 28-30.

3. Веремеенко К.Н., Голобородько О.П., Кизим А.И. Протеолиз в норме и при патологии. – К.: Здоровья, 1988. – 198 с.

4. Калиман П.А., Самохин А.А., Самохина Л.М. Активность Ca^{2+} -зависимых нейтральных протеиназ в органах крыс при введении им хлоридов кобальта и ртути // Укр. биохим. журн. – 2003. – **75**, № 1. – С. 104-106.

5. Левицкий Д.О. Кальций и биологические мембраны. – М.: Высш. шк., 1990. – 128 с.

6. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге – Новосибирск: Наука, Сиб. отделение, 1989. – 344 с.

7. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Сафина А.Ф. Механизмы развития окислительного стресса при ишемическом и реперфузионном повреждении миокарда // Усп. совр. биол. – 1997. – **117**, № 3. – С. 362-372.

8. Пат. України № 20171 МПК 12Q 1/38. Спосіб визначення активності протеїназ або їх інгібіторів в біологічних рідинах / Л.М. Самохіна, А.А. Дубінін. – Опубл. 25.12.97. – Бюл. № 6. – 6 с.

9. Пат. України № 46357А МПК G01N33/48, A61B19/02 Набір для визначення активності кальпаїнів в біологічних рідинах / Л.М. Самохіна, А.А. Самохін. – Опубл. 15.05.02. – Бюл. № 5. – 8 с.

10. Патент України № 72345 МПК G01N33/48, A61J1/00, C12N9/66 Набір для визначення активності α -2-макроглобуліну в біологічних рідинах / Л.М. Самохіна. – Опубл. 15.02.05. – Бюл. № 2. – 8 с.

11. Сологуб Л.І., Пашковська І.С., Антоняк Г.Л. Протеази клітин та їх функції. – К.: Наукова думка, 1992. – 194 с.

12. Целуйко В.І., Кравченко Н.А. Биохимические механизмы развития сердечной недостаточности // Укр. терапевт. журн. – 2004. – № 4. – С. 70-76.

13. Шмелев Е.И. ХОБЛ: ключевые проблемы // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2003. – № 2. – С. 5-9.

14. Cuzzocrea S., McDonald M.C., Mazzon E. Calpain inhibitor I reduces the development of acute and chronic inflammation // Am. J. Pathol. – 2000. – **157**, № 6. – P. 2065-2079.

15. Gopalakrishna R., Jaken S. Protein kinase C signaling and oxidative stress // *Free Radic. Biol. Med.* – 2000. – **28**, № 5. – P. 1379-1386.
16. Hatzizisis D., Gaitanaki C., Beis I. Degradation of miofibrillar proteins by calpain-like proteinase in the arm muscle of *Octopus vulgaris* // *J. Comp. Physiol.* – 2000. – **170**, № 5-6. – P. 447-456.
17. Khoury E.R., O'Halloran K., Bradford A. Effects of chronic hypobaric hypoxia on contractile properties of rat sternohyoid and diaphragm muscles // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2003. – **30**, № 8. – P. 551-554.
18. Kishimoto S., Sakon M., Umeshita K. et al. The inhibitory effect of prostaglandin E1 on oxidative stress-induced hepatocyte injury evaluated by calpain- μ activation // *Transplantation.* – 2000. – **69**, № 11. – P. 2314-2319.
19. Ray S.K., Matzelle D.D., Wilford G.G. E-64-d prevents both calpain upregulation and apoptosis in the lesion and penumbra following spinal cord injury in rats // *Brain Res.* – 2000. – **867**, № 1-2. – P. 80-89.
20. Reverter D., Braun M., Fernandez-Catalan C. et al. Flexibility analysis and structure comparison of two crystal forms of calcium-free human m-calpain // *Biol. Chem.* – 2002. – **383**, № 9. – P. 1415-1422.
21. Sorimachi H., Kawabata Y. Calpain and pathology in view of structure-function relationships // *Nippon Yakurigaku Zasshi.* – 2003. – **122**, № 1. – P. 21-29.
22. Tidball J.G., Spenser M.J. Calpains and muscular dystrophies // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* – 2000. – **32**, № 1. – P. 1-5.
23. Yoshimoto S., Hori M., Ozaki H. Proteolysis of acidic calponin by μ -calpain // *J. Biochem.* – 2000. – **128**, № 6. – P. 1045-1049.

КАЛЬПАИНЫ В СИСТЕМЕ “ПРОТЕИНАЗА–ИНГИБИТОР ПРОТЕИНАЗ” У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ОБСТРУКТИВНЫМ ЗАБОЛЕВАНИЕМ ЛЕГКИХ

Л.М. Самохина, В.В. Ефимов, А.Е. Замазий, Л.С. Воейкова
ИНСТИТУТ ТЕРАПИИ ИМ. Л.Т. МАЛОЙ АМН УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ

Резюме

У пациентов с хроническим обструктивным заболеванием легких выявлено снижение активности кальпаинов, α -2-макроглобулина, возраста уровня α -1-ингибитора протеиназ, что обусловлено прогрессированием воспалительного процесса и указывает на выведение протеиназ из организма. Снижение активности кальпаинов в сыворотке крови может быть вызвано окислением цистеина активного центра и приводит к нарушениям деятельности мышц, эффективности использования кислорода, что связано с развитием гипоксемии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: протеиназы, кальпаины, α -1-ингибитор протеиназ, α -2-макроглобулин, хроническое обструктивное заболевание легких.

CALPAINS IN “PROTEINASE-PROTEINASE INHIBITOR” SYSTEM IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASES

L.M. Samokhina, V.V. Yefimov, A.Ye. Zamaziy, L.S. Voeykova
INSTITUTE OF THERAPY BY A. L. T. MALA OF AMS OF UKRAINE, KHARKIV

Summary

At the patients with chronic obstructive pulmonary diseases the decrease activities of calpains, alpha-2-macroglobulin, increase of alpha-1-proteinase inhibitor level has been revealed, that is caused by progressing of inflammatory process and specifies removing of proteinase from the organism. The decrease of calpains activity in blood serum can be caused by oxidation of the active centre of cysteine, and can result in infringements of muscles activity, efficiency of oxygen use, that is related to hypoxia development.

KEY WORDS: proteinase, calpains, alpha-1-proteinase inhibitor, alpha-2-macroglobulin, chronic obstructive pulmonary diseases.

Отримано 01.11.2005 р.

Адреса для листування: Л.М. Самохіна, вул. Шарикова, 54, кв. 8, Харків-189, 61189, Україна.

ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗМІН У СУДИНАХ ПОРОЖНЬОЇ КИШКИ ПРИ ОТРУЄННІ ОРГАНІЗМУ БЛІДОЮ ПОГАНКОЮ

М.С. Гнатюк, Л.Т. Котляренко

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Комплексом біохімічних, морфологічних і морфометричних методів встановлено, що отруєння організму токсинами блідої поганки призводить до структурної перебудови дрібних та середніх артерій порожньої кишки, яка характеризується потовщенням стінки, звуженням їх просвіту та ураженням ендотеліоцитів, супроводжуючись істотним зменшенням пропускної здатності цих судин і погіршенням кровопостачання досліджуваного органа. Концентрації циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові тварин за умов досліджуваної патології суттєво змінювалися. Встановлено сильний позитивний кореляційний зв'язок між концентрацією малих ЦІК у сироватці крові та відносним об'ємом уражених ендотеліоцитів судин порожньої кишки.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: бліда поганка, циркулюючі імунні комплекси, артерії порожньої кишки.

ВСТУП. Отруєння дикорослими грибами залишаються актуальною проблемою токсикології протягом багатьох років. Летальні наслідки реєструють насамперед при отруєннях грибами роду *Amanita*. Синдром отруєння *A.phalloides* відмічають у 90 % смертельних випадків [5]. Летальність при отруєнні блідою поганкою досягає 95% [13]. Серед частин тонкої кишки порожній кишці належить важлива роль у функції травлення, у ній відбувається продовження розщеплення білків, жирів і вуглеводів до кінцевих продуктів та всмоктування їх у кров і лімфу. Проте гемодинамічні показники певної ділянки тіла значною мірою залежать від тонуусу її артеріальних судин, що проявляється відмінностями структури стінки та величини просвіту цих судин [12]. Кишка також є органом, що забезпечує відповідні імунні реакції на кишкові антигени, які визначають тонкий баланс між кишковою імунною толерантністю та ураженням [18]. При цьому роль ЦІК у пошкодженні судинного русла тонкої кишки до кінця не вивчена.

Метою роботи було дослідження структурно-функціональних змін середніх і дрібних артерій порожньої кишки при дії на організм токсинів блідої поганки та їх зв'язку з концентрацією ЦІК у сироватці крові експериментальних тварин.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Комплексом біохімічних, морфологічних і морфометричних методів досліджено зміни в порожній кишці 43

© М.С. Гнатюк, Л.Т. Котляренко, 2006.

білих статевозрілих щурів-самців, яких поділили на дві групи. 1-шу групу (контрольна) склали 19 практично здорових експериментальних тварин, яких утримували у звичайних умовах віварію, 2-гу – 24 щури, отруєних токсинами блідої поганки. Отруювали щурів шляхом внутрішньочеревного введення екстракту блідої поганки [7], яку збирали в листяно-соснових лісах Тернопільської області. Дослідних тварин виводили з експерименту через 24 год від його початку шляхом кровопускання за умов тіопентал-натрієвого наркозу.

У роботі використано метод кількісного визначення ЦІК шляхом преципітації в поліетиленгліколі-6000 [3]. Застосовуючи поліетиленгліколь різної концентрації визначали великі, середні та малі ЦІК у сироватці крові за допомогою спектрофотометра при довжині хвилі 450 нм.

Вирізані шматочки порожньої кишки фіксували в 10,0 % розчині нейтрального формаліну, частину матеріалу – в рідинах Карнуа, Ценкера, 96° етилового спирті. Після проведення забраного матеріалу через спирти зростаючої концентрації його заливали в парафін. Мікромомні зрізи фарбували гематоксиліном, за ван-Гізеном, Маллорі, Вейгертом, реактивом Шіффа [11].

При морфометричних вимірах дотримували методик і правил Г.Г. Автандилова [1, 2] і С.В. Шорманова [14]. При цьому визначали зовнішній і внутрішній діаметри судин, товщину медії, індекс Вогенворта, висоту ендотеліоцитів, діаметр їх ядер, ядерно-цитоплазматичні відношення, відносний об'єм уражених енто-

теліоцитів, кореляційні зв'язки між рівнем ЦІК і відносним об'ємом уражених ендотеліоцитів. Застосовували кореляційний аналіз із визначенням коефіцієнта (r) парної кореляції [1]. Силу зв'язку оцінювали за 4 ступенями: сильний ($r=0,7-0,9$), значний ($r=0,5-0,7$), помірний ($r=0,3-0,5$), слабкий ($r<0,3$). Кількісні величини обробляли статистично. Різницю між порівнюваними показниками визначали за Стьюдентом [4].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Дані про рівні великих, середніх і малих ЦІК у сироватці крові контрольних та дослідних щурів представлено в таблиці 1. Комплексна оцінка цих показників встановила, що рівні ЦІК у сироватці крові тварин, отруєних токсинами блідої поганки, суттєво змінювалися. Так, рівень великих ЦІК у дослідній групі щурів зростав від ($81,90 \pm 3,30$) до ($204,70 \pm 4,50$) ум. од. Необхідно зазначити, що наведені цифрові величини між собою статистично достовірно ($P<0,001$) відрізнялися і останній показник перевищував попередній майже у 2,5 раза.

Аналогічну динаміку виявлено при аналізі змін концентрацій середніх ЦІК у сироватці крові експериментальних щурів. Так, їх рівень у сироватці крові контрольних тварин становив ($117,20 \pm 4,20$) ум. од., а в дослідних спостереженнях – ($223,80 \pm 4,80$) ум. од. ($P<0,001$). При цьому остання цифрова величина перевищувала попередню в 1,9 раза. Рівень малих циркулюючих комплексів у сироватці крові білих щурів, отруєних токсинами блідої поганки, зріс від ($178,50 \pm 5,10$) до ($285,60 \pm 5,40$) ум. од. Різниця між наведеними цифровими величинами виявилася статистично достовірною ($p<0,001$). При цьому останній показник був більшим за аналогічний попередній на 60 %.

Відомо, що імунні комплекси утворюються постійно при імунній відповіді організму, коли антиген реагує з продукованими антитілами. При посиленому утворенні ЦІК і порушенні їх елімінації в організмі можуть виникати імунно-комплексні ураження, де основні події розвиваються в судинах [8].

Отримані в результаті проведеного дослідження дані свідчать про те, що судини порожньої кишки уражуються при отруєнні організму токсинами блідої поганки (табл. 2). Встановлено, що за змодельованих патологічних умов значно пошкоджуються дрібні артерії досліджуваного органа. Так, якщо зовнішній діаметр середніх судин порожньої кишки зростав на 3,9 %, то дрібних – на 18,7 %, а просвіт цих судин звужувався, відповідно, на 4,3 та 21,95 %. За змодельованих патологічних умов збільшувалася також товщина медії досліджуваних артерій. При цьому товщина медії середніх

артерій зросла на 19,9 %, а дрібних – на 94,4 %. Просвіт судин є одним із важливих показників їх структури і бере активну участь у формуванні загального периферичного опору [12]. Потовщення стінки артерій, звуження їх просвіту свідчили, про те що пропускна здатність досліджуваних судин при змодельованій патології суттєво зменшувалася. Останнє підтверджувалося змінами індексу Вогенворта, який у середніх артеріях зріс лише на 1,01 %, а в дрібних – майже у 2,3 раза. Більш виражену структурну перебудову стінки дрібних артерій порівняно із середніми, можна пояснити тим, що попереднім належить основна роль у регуляції повноцінного кровопостачання органа і вони більш навантажені [14].

Висота ендотеліоцитів у середніх і дрібних артеріях порожньої кишки при змодельованій патології мала тенденцію до збільшення. При цьому вказаний морфометричний показник середніх артерій зріс на 3,9 %, а дрібних – на 15,4 %, діаметр ядер ендотеліоцитів – відповідно, на 9,1 та 32,9 %. Ядерно-цитоплазматичні відношення збільшилися: в середніх судинах – на 6,7 %, у дрібних – на 33,3 %. Встановлені та описані кількісні зміни досліджуваних клітин свідчили про суттєве порушення клітинного гомеостазу і функцій ендотеліоцитів [9, 10]. Останні синтезують або експресують на своїй поверхні біологічно активні речовини: фактор Вілленбранда, ендотеліальний фактор релаксації – NO, простациклін, інгібітор тканинного активатора плазміногена та ряд інших [16]. При цьому найбільше значення в патологічних механізмах порушення функції ендотелію мають зміни метаболізму оксиду азоту (NO), який є основною ефекторною молекулою, продукується ендотеліоцитами та опосередковує більшість функцій ендотелію. NO відіграє важливу роль у регулюванні тонуусу кровоносних і лімфатичних судин [10, 15]. Дисфункція ендотеліоцитів призводить до зменшення синтезу NO й активації процесів його деградації за умов оксидативного стресу [17]. Пошкодження ендотеліоцитів супроводжується блокадою NO-синтази, зниженням продукції NO, що спричиняє звуження судин і порушення локального кровотоку, ще більше посилюючи гіпоксію [6]. Описане свідчить про те, що при пошкодженні та дисфункції ендотеліоцитів, які виникають при отруєнні блідою поганкою, очевидно, знижується синтез NO, що призводить до спазму судин. Виявлене зменшення їх внутрішнього діаметра повністю підтверджує сказане. Світлооптично у стінці досліджуваних судин порожньої кишки відмічали виражений набряк і просякання базальної мембрани білками плазми. За умов змодельованої патології встанов-

Таблиця 1 – Рівень ЦІК у сироватці крові дослідних тварин

Групи тварин	ЦІК, ум. од. (M±m)		
	Великі	Середні	Малі
Контрольна	81,90±3,30	117,20±4,20	178,50±5,10
Дослідна	204,70±4,50	223,80±4,80	285,60±5,40
p	<0,001	<0,001	<0,001

Таблиця 2 – Морфометрична характеристика артерій порожньої кишки білих щурів при отруєнні блідою поганкою (M±m)

№ за/п	Показник	Групи тварин			
		Середні артерії		Дрібні артерії	
		1-ша	2-га	1-ша	2-га
1	Зовнішній діаметр, мкм	85,30±2,60	88,60±3,40	37,33±0,30	44,30±0,81**
2	Внутрішній діаметр, мкм	53,50±0,36	51,20±1,80	12,30±0,14	9,60±0,27***
3	Товщина медії, мкм	15,60±0,12	18,70±0,57**	7,10±0,07	13,80±0,33***
4	Індекс Вогенворта, %	251,40±6,30	254,20±6,60	917,10±11,40	2132,40±30,90***
5	Висота ендотеліоцитів, мкм	6,12±0,09	6,36±0,12	5,96±0,12	6,88±0,09***
6	Діаметр ядер ендотеліоцитів, мкм	3,30±0,04	3,60±0,06*	3,10±0,05	4,12±0,06***
7	Ядерно-цитоплазматичні відношення	0,300±0,004	0,320±0,005	0,270±0,003	0,360±0,003*
8	Відносний об'єм уражених ендотеліоцитів, %	1,90±0,03	14,20±0,21***	2,35±0,09	39,20±1,30***

Примітка. * – величини, що статистично достовірно відрізняються від контрольних (* – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001).

лено проліферацію ендотеліальних клітин дрібних артерій. При цьому виявляли також дистрофічно та некробіотично змінені й десквамовані ендотеліоцити. У стінці деяких дрібних артерій порожньої кишки спостерігалися вогнища фібриноїдного некрозу.

Кореляційний аналіз виявив позитивні кореляційні зв'язки між рівнями великих, середніх і малих ЦІК у сироватці крові та відносним об'ємом уражених ендотеліоцитів. Найбільш вираженим досліджуваний зв'язок виявився між концентрацією малих ЦІК у сироватці крові та відносним об'ємом уражених ендотеліоцитів, який за змодельованих експериментальних умов досягав ($r=+0,87\pm 0,03$). Наведена цифрова величина свідчить про сильний позитивний кореляційний зв'язок між ступенем ураження судин і рівнем малих ЦІК у сироватці крові. Відомо також, що малі ЦІК легше та швидше проникають у стінку судин порівняно із середніми та великими [9]. З описаного вище

логічно випливає, що концентрація ЦІК у сироватці крові дослідних тварин суттєво впливає на ступінь ураження досліджуваних судин.

ВИСНОВОК. Комплексом біохімічних, морфологічних і морфометричних методів встановлено, що отруєння організму токсинами блідої поганки призводить до суттєвої структурної перебудови переважно дрібних артерій порожньої кишки, яка характеризується потовщенням стінки, звуженням їх просвіту й ураженням ендотеліоцитів, супроводжуючись істотним зменшенням пропускної здатності цих судин і погіршенням кровопостачання досліджуваного органа. Значний позитивний кореляційний зв'язок між відносним об'ємом уражених ендотеліоцитів та концентрацією малих ЦІК у сироватці крові вказує на важливу роль останніх у патогенезі уражень судин порожньої кишки при дії на організм токсинів блідої поганки.

ЛІТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990. – 318 с.
2. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии. – М.: Медицина, 2002. – 240 с.
3. Гриневич Ю.А., Алферов А.М. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных // Лаб. дело. – 1981. – № 8. – С. 493-495.
4. Лопач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях Excel. – К.: Морион, 2001. – 410 с.

5. Молдаван М.Г., Гродзинская А.А. Общетокическое и нейротропное действие базидиальных грибов родов Amanita и Psilocybe // Современные проблемы токсикологии. – 2002. – № 2. – С.15-20.
6. Осадчий Л.И., Бащева Т.В., Сергеев И.В. Участие эндотелийзависимого механизма в формировании реакции системной гемодинамики на увеличение объема крови // Бюлл. экспер. биол. и мед. – 2003. – 136, № 11. – С. 487-489.
7. Пат. 55691 А Україна, МКИ 7 G09B23/28. Спосіб моделювання уражень тонкої кишки токсинів блідої поганки.

нами блідої поганки / М.С. Гнатюк, Л.Т. Виклюк – 2002043509; Заявл. 26.04.02; Опубл. 15.04.03; Бюл. № 4.

8. Ройт А., Бростофф Д., Мейл Д. Иммунология. – М.: Мир, 2000. – 582 с.

9. Рябцев О.В. Функция эндотелию у літніх хворих на гострий інфаркт міокарда з зубцем Q і зміни її в процесі лікування з уведенням різних доз інгібітора ангіотензин-перетворюючого ферменту // Серце і судини. – 2004. – № 4 (8). – С. 8-11.

10. Саркисов Д.С. Структурные основы гомеостаза. – М.: Медицина, 1993. – 362 с.

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

12. Тибінка А.М., Зайцев О.О., Щепанська М.В. Взаємовизначаючий зв'язок між морфологічними та функціональними характеристиками дрібних артеріальних судин // Наук. вісник Львів. нац. акад. ветер. медич. ім. С.З. Гжицького. – 2004. – 6 (№ 1), частина 2. – С. 266-272.

13. Черний В.И., Новикова Р.И., Кузнецова И.В.

Отравление аманитальными грибами тяжелой степени: сравнительный анализ эффективности различных видов эфферентной терапии // Тези доп. наук.-практ. конф. "Організація токсикологічної допомоги в Україні". – 2002. – С. 35-36.

14. Шорманов С.В. Морфологические изменения коронарных артерий при экспериментальной коарктации аорты и после ее устранения // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1982. – 82, № 1. – С. 98-107.

15. Faraci F.M. Regulation of the cerebral circulation by endothelium // Pharmacol. Ther. – 1992. – 506. – P. 1-22.

16. Gewalting M.T., Kojda G. Vasoprotection by nitric oxide mechanisms and therapeutic proteolol // Cardiovasc. Res. – 2002. – 55 (2). – P. 250-260.

17. Ulrich V., Bachshmid M. Superoxide as a messenger of endothelial function // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2000. – 278. – P. 1-8.

18. Spahn T.W., Kucharzik T. Modulating the intestinal immune system: the role of lymphotoxin and GALT organs // Gut. – 2004. – № 53 (3). – P. 456-465.

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В СОСУДАХ ТОЩЕЙ КИШКИ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ОРГАНИЗМА БЛЕДНОЙ ПОГАНКОЙ

М.С. Гнатюк, Л.Т. Котляренко

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Комплексом биохимических, морфологических и морфометрических методов установлено, что отравление организма токсинами бледной поганки приводит к структурной перестройке мелких и средних артерий тощей кишки, что характеризуется утолщением стенки, сужением их просвета и поражением эндотелиоцитов, сопровождаясь существенным уменьшением пропускной способности этих сосудов и ухудшением кровоснабжения исследуемого органа. Концентрации циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови животных в условиях данной патологии существенно изменялись. Установлена сильная положительная корреляционная связь между концентрацией малых ЦИК в сыворотке крови и относительным объемом пораженных эндотелиоцитов сосудов тощей кишки.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: бледная поганка, циркулирующие иммунные комплексы, артерии тощей кишки.

PECULIARITIES OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHANGES IN VESSELS OF JEJUNUM UNDER THE DEATH-CUP (AMANITA PHALLOIDES) POISONING

M.S. Hnatjuk, L.T. Kotlyarenko

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.Y. HORBACHEVSKY

Summary

It was established by complex of biochemical, morphological and morphometric methods that death-cup (*Amanita phalloides*) poisoning is accompanied by structural rebuilding of small and middle jejunal arteries (thickening of arterial wall, decrease of vascular lumen and affection of endotheliocytes with subsequent substantial decrease of lumen patency of mentioned vessels and deterioration of blood supply of studied organ). Concentrations of circulatory immune complexes were substantially modified in blood serum of experimental animals under conditions of mentioned pathology. Important positive correlation was established between concentration of small circulatory immune complexes in blood serum and relative extent of affected endotheliocytes of jejunal blood vessels.

KEY WORDS: death-cup (*Amanita phalloides*), circulatory immune complexes, arteries of jejunum.

Отримано 05.09.2005 р.

Адреса для листування: Л.Т. Котляренко, вул. Л. Українки, 11, Копичинці, Тернопільська обл., 48264, Україна.

ПОРІВНЯЛЬНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АМІНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ НАДЗЕМНОЇ ЧАСТИНИ ТРЬОХ ВИДІВ АМАРАНТУ

Н.Б. Бурд, В.С. Кисличенко

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

За допомогою амінокислотного аналізатора LKB 4151 "Альфа Плюс" (Швеція) визначено амінокислотний склад і вміст загального білка в надземній частині трьох видів амаранту. Встановлено, що у сировині міститься не менше 15 амінокислот у *A. paniculatus* і не менше 16 амінокислот у *A. hypochondriacus* та *A. retroflexus*, з них валін, лейцин, ізолейцин, треонін, метіонін, лізин, гістидин, фенілаланін і аргінін належать до незамінних.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: амарант, білок, амінокислоти.

ВСТУП. При загальному дефіциті вітамінів, поживних речовин, харчового та кормового білка дослідження рослин роду Амарант (*Amaranthus* L.) має важливе значення. З ліпофільної фракції, отриманої з надземної частини амаранту, виділено каротиноїди, хлорофіли, жирні кислоти (серед яких лінолеву, ліноленову, пальмітинову тощо.), фосфатиди, сквален, токоферол і т. ін. [1, 4]. У цьому ж виді рослинної сировини нами було виділено та визначено кількісний вміст фенольних сполук, таких, як флавоноїди, фенолкарбонові кислоти, дубильні речовини [1].

Амарант належить до культур з високим вмістом білка. Вихід білка з одного гектара амаранту в середньому складає близько 200 кг, тоді як у ячменю або пшениці він на порядок нижчий. Загальний вміст білка у різних видів амаранту коливається від 11 до 23 % [3, 4].

Амінокислотний склад білків з насіння амаранту також варіює у різних видів рослини. У насінні амаранту міститься велика кількість сірковмісних амінокислот і лізину. Вміст лізину в насінні амаранту вищий, ніж у зерні злаків. Із незамінних амінокислот переважає лейцин [1, 4, 6].

З метою пошуку нових джерел білка, раціонального використання сировини та отримання більш повного уявлення про хімічний склад ми вивчали вміст амінокислот та білка в надземній частині трьох видів амаранту, що поширені в Україні.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктами дослідження було обрано надземну частину *A. pa-*

niculatus сорту "Атлант", зібраного на території НДІ тваринництва УААН "Українка"; *A. hypochondriacus* сорту "Сем", зібраного на дослідному полі Національного аграрного університету ім. В.В. Докучаєва та *A. retroflexus*, зібраного у с. Тимченки, Харківської області. Сировину збирали на стадії початку плодоношення.

Визначення вмісту амінокислот у досліджуваній сировині проводили за допомогою амінокислотного аналізатора LKB 4151 "Альфа Плюс" (Швеція) на колонці, заповненій іонообмінною смолою марки DCGA. Для проведення дослідження сировину попередньо витримували у сушильній шафі при температурі 100 °С протягом 2-3 год до постійної маси [5].

Близько 0,1 г (точна наважка) висушеної сировини вносили в ампулу (скло Пірекс), заливали 200-кратним надлишком 6 М розчину кислоти хлористоводневої, відкачували повітря, запаювали, поміщали у термостат при температурі +80 °С і гідролізували протягом 20 годин. Після цього ампулу розкривали, надлишок кислоти хлористоводневої відганяли і проводили нейтралізацію проб в ексікаторі над натрію гідроксидом протягом 2 діб. Потім пробу розбавляли 10 мл цитратного буферного розчину з рН 2,2, ретельно перемішували і фільтрували. Одержаний фільтрат вносили у колонку, заповнену іонообмінною смолою, і крізь колонку, за допомогою насоса, пропускали цитратні буферні розчини з рН від 2,2 до 7,8 і різною іонною силою, що сприяло розділенню амінокислот.

Елюат, який виходив із колонки, змішувався з нінгідринним реагентом у реакторі при температурі 135 °С, де проходила реакція між

нінгідринном і амінокислотами з утворенням забарвлених сполук, вміст яких прямо пропорційний вмісту амінокислот в елюаті. Суміш надходила до спектрофотометра, де вимірювали інтенсивність поглинання забарвлених сполук. УФ-спектр поглинання отримували при довжині хвилі 440 нм для проліну та при довжині хвилі 570 нм для інших амінокислот.

Вихідний сигнал фотометра надходив на двоканальний самописець, який реєстрував концентрації амінокислот на хроматограмі у вигляді серії піків. Час утримування піку, який визначали за хроматограмою, характеризує кожну індивідуальну амінокислоту. Площа піку відповідає вмісту присутньої амінокислоти. Електричний сигнал самописця також надходив на інтегратор, який автоматично обчислював

площу кожного піку. Для калібрування амінокислотного аналізатора крізь катіоніт пропустили стандартну суміш амінокислот [5]. Хроматограми визначення вмісту зв'язаних амінокислот у надземній частині *A. paniculatus*, *A. hypochondriacus* та *A. retroflexus* наведено, відповідно, на рисунках 1, 2 і 3. Отримані результати кількісного вмісту зв'язаних амінокислот наведено у таблиці 1.

Вміст білка встановлювали за загальною кількістю азоту (метод К'ельдаля) [2].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Загальний вміст білка у перерахунку на суху сировину склав для *A. paniculatus* 12,97 %, для *A. hypochondriacus* – 16,57 %, для *A. retroflexus* – 23,20 %.

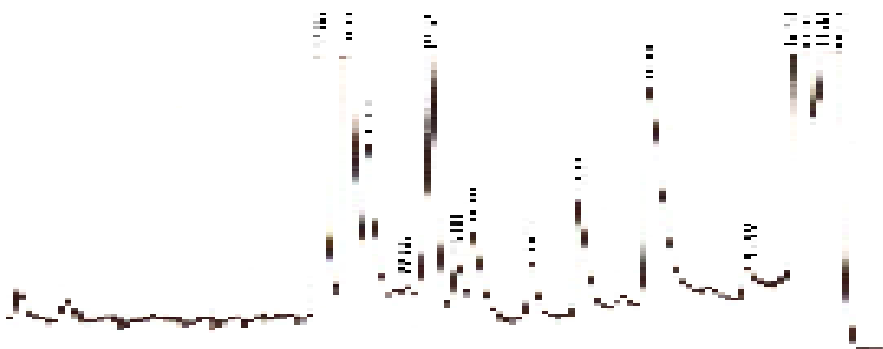


Рис. 1. Хроматограма визначення вмісту амінокислот у надземній частині *A. paniculatus*.

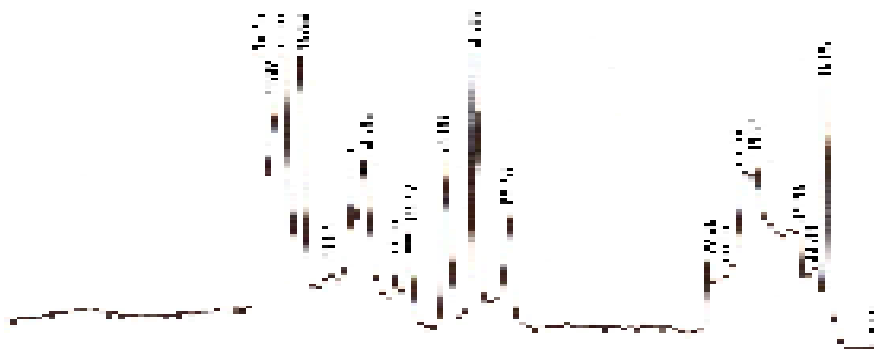


Рис. 2. Хроматограма визначення вмісту амінокислот у надземній частині *A. hypochondriacus*.

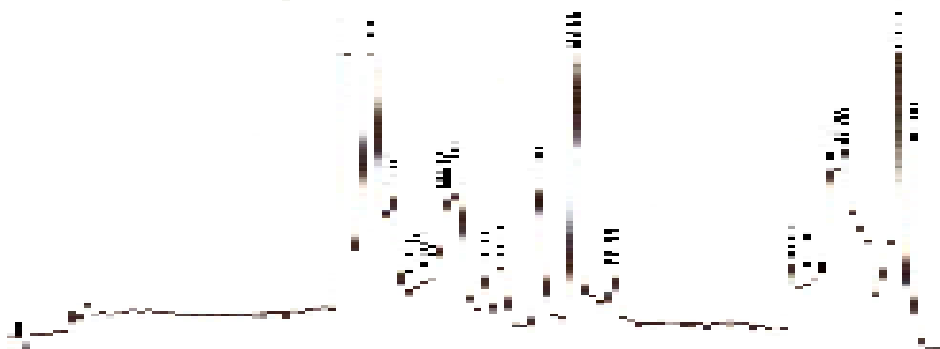


Рис. 3. Хроматограма визначення вмісту амінокислот у надземній частині *A. utroflexus*.

Як видно з таблиці 1, при визначанні амінокислотного складу в зразках *A. paniculatus* було виявлено 15, а у зразках *A. hypochondriacus* і *A. retroflexus* – 16 зв'язаних амінокислот, у тому числі 9 незамінних. Максимальну кількість складають для *A. paniculatus*: глутамінова кислота (2,873 %), аланін (1,011 %) і лейцин (0,926 %); для *A. hypochondriacus*: глутамінова кислота (2,246 %), аланін (1,507 %), лейцин (1,341 %), аспарагінова кислота (1,181 %) і пролін (0,994 %); для *A. retroflexus*: глутамінова кислота (3,573 %), аспарагінова кислоти (2,179 %) кислоти, аланін (2,172 %), а також треонін, серин, пролін, валін, ізолейцин, лейцин, тирозин, лізин, аргінін (понад 1 %). Найбільший вміст амінокислот, у тому числі незамінних, було визначено для несортного зразка *A. retroflexus*, а мінімальний – для зразка *A. paniculatus* сорту "Атлант".

Вміст лізину в білку, який є дуже важливим показником кормової цінності рослин [4, 7], складає 3,8-4,8 % від загальної кількості білка та є досить високим для всіх трьох видів амаранту порівнянно з іншими культурами, які

використовуються у кормовиробництві (кукурудза – 2,9 %, пшениця – 2,2 %).

ВИСНОВКИ. 1. У результаті проведеного експерименту встановлено наявність в надземній частині амаранту виду *A. paniculatus* 15, а у зразках *A. hypochondriacus* і *A. retroflexus* – 16 зв'язаних амінокислот, 9 з яких є незамінними, а також визначено їх кількісний вміст.

2. Визначено загальний вміст білка в досліджуваній сировині, який складає для *A. paniculatus* 12,97 %, для *A. hypochondriacus* – 16,57 %, для *A. retroflexus* – 23,20 %, що свідчить про високу кормову цінність даних видів амаранту.

3. Визначено кількісний вміст амінокислот у білку. Вміст лізину, який є важливим показником кормової цінності рослин, був досить високим для всіх трьох зразків амаранту (від 3,8 до 4,8 % у перерахунку на білок), що робить амарант перспективною сировиною для створення білкових кормових та спеціальних харчових біологічно активних добавок.

Таблиця 1 – Вміст амінокислот у надземній частині різних видів амаранту, %

№	Амінокислота	Вміст, %					
		<i>A. paniculatus</i>		<i>A. hypochondriacus</i>		<i>A. retroflexus</i>	
		на суху масу	на білок	на суху масу	на білок	на суху масу	на білок
1	Аспарагінова	0,683	5,266	1,181	7,127	2,179	9,392
2	Треонін*	0,382	2,945	0,668	4,031	1,206	5,198
3	Серин	0,485	3,739	0,784	4,731	1,381	5,953
4	Глутамінова	2,873	22,151	2,246	13,555	3,573	15,401
5	Гліцин	0,689	5,312	0,678	4,092	0,866	3,733
6	Аланін	1,011	7,795	1,507	9,095	2,172	9,362
7	Валін*	0,583	4,495	0,806	4,864	1,083	4,668
8	Метіонін*	0,206	1,588	0,280	1,690	0,509	2,194
9	Ізолейцин*	0,188	1,449	0,679	4,098	1,261	5,435
10	Лейцин*	0,926	7,139	1,641	9,9038	1,300	5,603
11	Тирозин	0,346	2,668	0,572	3,452	1,026	4,422
12	Фенілаланін*	0,484	3,732	0,709	4,279	0,896	3,862
13	Гістидин*	0,194	1,496	0,475	2,867	0,601	2,591
14	Лізин*	0,491	3,786	0,737	4,448	1,125	4,849
15	Аргінін*	0,486	3,747	0,860	5,190	1,178	5,078
16	Пролін	–	–	0,994	5,999	1,175	5,065

Примітка. * – незамінні амінокислоти.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бурд Н.Б., Кисличенко В.С. Изучение некоторых видов сырья *Amarantus paniculatus*, используемых в животноводстве // "Современные вопросы фармакогнозии": Межвуз. сборник науч. трудов с междунар. участием, вып. 1. – Ярославль, 2004. – С. 51.

2. Ермаков А.И. Методы биохимического исследования растений. – М.: Сельхозгиз, 1952. – С. 308-315.

3. Камінський Д.В., Єлісеєва О.П., Черкас А.П. та ін. Фізико-хімічна характеристика амаранту та особливості його метаболічного впливу // Мед.

хімія. – 2002. – 4, № 2. – С. 77-85

4. Кононков В.П., Гинс В.К., Гинс М.С. Амарант: перспективная культура XXI века. – М.: Дом Федорова, 1998. – 56 с.

5. Черонис Н.Д. Микро- и полумикрометоды органического анализа / Под ред. В.А. Климова. – М.: Химия, 1973. – 576 с.

6. Correa A.D., Jokl L., Carlsson R. Amino acid composition of some *Amaranthus* sp. grain proteins and of its fractions // Arch. Latinoam. Nutr. – 1986. – **36** (3). – P. 466-476.

7. Fraga L.M., Ramos N., Venereo M. et al. *Amaranthus* (*A. cruentus*) Forage Meal in Diets for Broilers // Cuban Journal of Agricultural Science. – 1993. – **27** (2). – P. 193-198.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ ТРЕХ ВИДОВ АМАРАНТА

Н.Б. Бурд, В.С. Кисличенко

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

С помощью аминокислотного анализатора LKB 4151 "Альфа Плюс" (Швеция) определены аминокислотный состав и содержание общего белка в надземной части трех видов амаранта. Установлено, что в сырье содержится не менее 15 аминокислот у *A. paniculatus* и не менее 16 аминокислот у *A. hypochondriacus* и *A. retroflexus*, из них валин, лейцин, изолейцин, треонин, метионин, лизин, гистидин, фенилаланин и аргинин относятся к незаменимым.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **амарант, белок, аминокислоты.**

COMPARATIVE DEFINITION OF AMINO ACID COMPOSITION OF OVERGROUND PART THREE SPECIES OF AMARANTHUS

N.B. Burd, V.S. Kyslychenko

NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY

Summary

The amino acid composition and total protein contents in overground part of three species of *amaranthus* was determined with the help of amino acid analyzer LKB 4151 "Alpha Plus" (Sweden). It was found that the raw material contains at least 15 amino acids in *A. paniculatus* and not less than 16 amino acids in *A. hypochondriacus* and *A. retroflexus*. Among them valine, leucine, isoleucine, threonine, methionine, lysine, phenylalanine, histidine and arginine belong to essential amino acids.

KEY WORDS: **amaranthus, protein, amino acids.**

Отримано 15.11.2005 р.

Адреса для листування: Н.Б. Бурд, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.

ВПЛИВ БЛОКАТОРІВ СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ НА СТАН ПЕЧІНКИ ПРИ ЇЇ ІШЕМІЧНО-РЕПЕРFUЗІЙНОМУ ПОШКОДЖЕННІ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Л.Й. Плосканич

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Блокатори синтезу оксиду азоту (N-нітро-L-аргінін або аміногуанідин) при їх попередньому введенні призводили до зменшення вмісту нітрит-аніона та наростання проявів експериментального ішемічно-реперфузійного пошкодження печінки, що проявлялось подальшою активацією процесів перекисного окиснення ліпідів та пригніченням антиоксидантних резервів з одночасним зниженням активності енергозабезпечувальних процесів у мітохондріях. Ступінь негативного впливу на стан печінки при її ішемії-реперфузії був вищим при застосуванні неселективного блокатора NO-синтази N-нітро-L-аргініну, ніж при введенні селективного інгібітора індукцибельної ізоформи даного ферменту аміногуанідину.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ішемія-реперфузія печінки, оксид азоту, N-нітро-L-аргінін, аміногуанідин, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, ферменти мітохондрій.

ВСТУП. В останні роки велику увагу приділяють системі оксиду азоту (NO), її ролі в розвитку та перебігу уражень печінки [2, 15, 18]. Відомо, що синтез NO в організмі здійснюється за участю ферментів групи NO-синтаз (NOS) [13, 22, 26]. Встановлено, що при деяких патологічних станах відбувається активація цих ферментів [19, 20], що зумовлює зростання концентрації NO [10, 18, 23]. Разом із тим, літературні дані щодо ролі системи NO у патогенезі уражень печінки, зокрема при її ішемії-реперфузії, є суперечливими [14, 21, 25, 26, 27, 28]. Питання про те, чи відіграє молекула оксиду азоту протективну або пошкоджувальну роль за умов ішемічно-реперфузійного пошкодження печінки, залишається нез'ясованим. Фармакологічна модуляція експресії NOS може допомогти у з'ясуванні ролі оксиду азоту в патогенезі ішемічно-реперфузійного ураження печінки. Метою нашого дослідження було встановлення особливостей впливу інгібіторів різних ізоформ NOS на метаболічні процеси у печінці на різних стадіях її ішемічно-реперфузійного пошкодження.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на 84 нелінійних щурах-самцях масою 150-200 г, яких утримували на звичайному харчовому, температурному та світловому режимі віварію. Частині тварин перед

моделюванням ішемічно-реперфузійного пошкодження (ІРП) упродовж 4 діб щоденно вводили блокатор синтезу оксиду азоту неселективної дії N-нітро-L-аргінін (NAME) ("Aldrich. Chem. Co.", Англія, по 10 мг/кг маси щура). Іншим тваринам – селективний блокатор індукцибельної NO-синтази (iNOS) аміногуанідин (AG) (ООО "Хімлабораторреактив", Київ, по 10 мг/кг маси щура) внутрішньочеревно, щоденно протягом 4 діб. Результати кожної серії досліджень порівнювали з відповідними показниками у тварин, яким моделювали ІРП. Контролем слугували несправжньо оперовані щури. Ішемічно-реперфузійне пошкодження печінки викликали шляхом накладання лігатури на судинну ніжку лівої і середньої часток печінки на 30 хв. [4]. Дослідження біохімічних показників проводили через 0,25, 1 і 24 год після зняття лігатури [3, 24]. У гомогенатах печінки визначали вміст гідроперекисів ліпідів (ГПЛ) [5], ТБК-активних продуктів (ТБП) [1], відновленого глутатіону (G-SH) [16], активність супероксиддисмутази (СОД) [12], каталази (КТ) [7], сукцинатдегідрогенази (СДГ) [5], цитохромоксидази (ЦХО) [6]. Про вміст NO у гомогенатах печінки судили за кількістю його стабільного метаболіту нітрит-аніона (NO₂⁻) [8]. Статистичну обробку результатів досліджень проводили за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel XP, використовуючи t-критерій Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що при ІРП смертності піддослідних тварин не спостерігалось. Одночасно за цих умов у печінці та сироватці крові білих щурів знижувався вміст NO_2^- : через 15 хв – на 24 і 17 %, через 1 год – на 29 і 15 %, через 24 год – на 24 і 15 % (рис. 1), що, ймовірно, пов'язано з порушенням його синтезу та посиленням процесів інактивації при ішемії [11]. Зниження вмісту NO_2^- супроводжувалось накопиченням у печінці та сироватці крові продуктів перекисної дегградації ліпідних компонентів мембран гепатоцитів. Так, вміст ГПЛ зростав через 0,25 год на 88 %, через 1 год – на 54 %, через 24 год – на 48 % (табл. 1). Аналогічні зміни відбувались і з вмістом ТБП, кількість яких збільшувалась у всі терміни ІРП як у печінці, так і в сироватці крові: відповідно, у 2,1 і 1,9 раза (15 хв), 1,5 і 2,0 рази (1 год), 1,3 і 1,5 рази (24 год) (див. табл. 1). Одночасно спостерігалось достовірне зниження активності ферментів антиоксидантного захисту. Так, через 0,25 год ІРП активність СОД зменшувалась на 47 %, через 1 год – на 44 %, через 24 год – на 44 % (див. табл. 1). Знижувалась за цих умов і активність КТ у печінці й сироватці крові у всі досліджувані терміни: відповідно, на 11 і 28 % (0,25 год), на 41 і 28 % (1 год), на 26 і 30 % (24 год) (див. табл. 1). Разом із тим, відбувалось виснаження пулу G-SH, вміст якого зменшувався через 0,25, 1 і 24 год після ІРП, відповідно, на 56, 68 і 34 % (див. табл. 1). Активність СДГ за умов ІРП знижувалась: через 15 хв – на 36 %, 1 год – 38 %, 24 год – 21 % (табл. 2). Активність іншого мітохондріального ферменту – ЦХО також зменшувалась на I, II і III стадіях ІРП: відповідно, на 22, 21 і 18 % (див. табл. 2). Встановлені зміни активності ферментів дихального ланцюга мітохондрій за умов дефіциту кисню свідчать про пригнічення процесів енергоутворення в гепатоцитах [11].

Застосування неселективного інгібітора iNOS N-нітро-L-аргініну супроводжувалось зниженням виживання піддослідних тварин на 25 %, тоді як аміногуанідин смертності не спричиняв.

Введення тваринам неселективного блокатора синтезу оксиду азоту N-нітро-L-аргініну та селективного блокатора iNOS аміногуанідину характеризувалось подальшим зниженням рівня NO_2^- у печінці й сироватці крові, відповідно, на 33 і 45 % та 24 і 34 % (через 0,25 год ІРП), 32 і 17 % та 24 і 13 % (через 1 год), 29 і 15 % та 28 і 44 % (через 24 год) (див. рис. 1), що є наслідком блокування NO-синтази, які беруть участь у синтезі NO [21]. У серії дослідів, де вводили N-нітро-L-аргінін,

встановлено найвищий рівень активності процесів перекисного окиснення ліпідів. Так, кількість ТБП і ГПЛ у гомогенатах печінки, порівняно з ІРП, зростала через 15 хв на 51 і 30 %, через 1 год – на 85 і 45 %, через 24 год – на 94 і 18 % відповідно (див. табл. 1). Аналогічно у сироватці крові вміст продуктів переокиснення ліпідів (ТБП) підвищувався, відповідно, на 34 % через 0,25 год реперфузії, на 33 % – через 1 год, на 42 % – через 24 год. При введенні аміногуанідину вміст ТБП і ГПЛ у печінці, порівняно з групою тварин з ІРП, також зростав, але меншою мірою, – на 38 і 14 %, на 56 і 26 %, на 31 і 16 % відповідно до термінів дослідження. Аналогічно, в сироватці крові збільшувався вміст ТБП на 24, 25 і 26 % у I, II і III терміни експерименту (див. табл. 1). Вказані зміни супроводжувались зниженням активності КТ і у печінці, і в сироватці крові: у тварин, яким вводили N-нітро-L-аргінін, – на 15 і 47 % (15 хв), на 35 і 41 % (1 год), на 21 і 42 % (24 год), а у щурів, яким попередньо вводили аміногуанідин, – на 12 і 41 % (15 хв), на 30 і 37 % (1 год), на 18 і 40 % (24 год) відповідно (див. табл. 1). Змншувалась при цьому і активність іншого ферменту антиоксидантного захисту – СОД при введенні N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину: через 0,25 год реперфузії – на 31 і 34 %, через 1 год – на 42 і 44 %, через 24 год – на 35 і 46 % (див. табл. 1). Разом із тим, на тлі застосування інгібіторів NO-синтази спостерігалось вірогідне зменшення пулу G-SH на всіх стадіях розвитку ІРП: відповідно, на 39, 44 і 35 % – у щурів, яким вводили N-нітро-L-аргінін, та на 34, 34 і 26 % – у щурів, яким попередньо вводили аміногуанідин (див. табл. 1). При введенні N-нітро-L-аргініну чи аміногуанідину спостерігались також зміни у функціонуванні електронно-транспортного ланцюга мітохондрій, зниження активності як СДГ – на 25 і 19 % (15 хв), на 37 і 30 % (1 год), на 18 і 13 % (24 год), так і ЦХО – на 27 і 25 % (15 хв), на 31 і 19 % (1 год), на 15 і 26 % (24 год) (див. табл. 2), що є ознакою пригнічення енергозалежних процесів внаслідок наростання метаболічних порушень.

ВИСНОВКИ. 1. Ішемічно-реперфузійне пошкодження на різних стадіях свого розвитку (0,25, 1 і 24 год) супроводжується зменшенням вмісту нітрит-аніона, активацією процесів перекисного окиснення ліпідів, зниженням активності супероксиддисмутази і каталази та виснаженням пулу відновленого глутатіону, пригніченням функціонування мітохондріального електронно-транспортного ланцюга у печінці піддослідних тварин.

Таблиця 1 – Зміни показників прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу при ішемічно-реперфузійному пошкодженні печінки (M±m)

Показник	Термін	Серія дослідів			
		Контроль n= 6	Контрольна патологія n=6	Введення NAME n=8	Введення AG n=8
ТБП, ммоль/кг	0,25 год	6,34±0,28	13,55±0,31*	20,51±0,60**	18,66±0,96**
	1 год	6,06±0,28	9,33±0,55*	17,24±0,51**	14,53±1,03**
	24 год	6,44±0,23	8,40±0,70*	16,31±0,31**	11,04±0,69**
ГПЛ, ум. од./кг	0,25 год	5,17±0,26	9,70±0,40*	12,63±0,63**	11,03±0,27**
	1 год	5,37±0,26	8,27±0,31*	11,97±0,39**	10,43±0,27**
	24 год	5,07±0,29	7,50±0,32*	8,83±0,39**	8,67±0,31**
СОД, ум. од./кг	0,25 год	4,08±0,68	2,17±0,21*	1,44±0,18**	1,51±0,17**
	1 год	4,99±0,59	2,80±0,42*	1,57±0,23**	1,63±0,22**
	24 год	4,42±0,41	2,47±0,23*	1,33±0,14**	1,62±0,16**
КТ, моль/с	0,25 год	8,92±0,03	7,97±0,37*	6,80±0,18**	6,99±0,15**
	1 год	9,29±0,03	5,45±0,40*	3,53±0,20**	3,84±0,13**
	24 год	8,20±0,02	6,05±0,37*	4,79±0,23**	4,98±0,20**
G-SH, ммоль/кг	0,25 год	3,13±0,17	1,37±0,17*	0,84±0,09**	0,90±0,05**
	1 год	3,70±0,22	1,19±0,12*	0,66±0,06**	0,78±0,06**
	24 год	3,09±0,29	2,03±0,19*	1,32±0,17**	1,50±0,10**

Примітки: 1. * – достовірна різниця відносно контрольної групи (p<0,05).

2. ** – достовірна різниця відносно контрольної патології (p<0,05).

2. Блокатори синтезу оксиду азоту (N-нітро-L-аргінін та аміногуанідин) при їх попередньому введенні сприяють подальшому зменшенню вмісту нітрит-аніона та наростанню проявів експериментального ішемічно-реперфузійного пошкодження печінки, що проявляється зростанням показників перекисного окиснення ліпідів, зниженням активності ферментів антиоксидантного захисту та активності ферментів мітохондрій.

3. Ступінь негативного впливу на стан печінки при її ішемії-реперфузії вищий при застосуванні неселективного блокатора NO-синтази N-нітро-L-аргініну, ніж при введенні

селективного інгібітора індукцибельної ізоформи даного ферменту аміногуанідину. При використанні N-нітро-L-аргініну смертність піддослідних тварин становила 25 %, при введенні аміногуанідину щури не гинули.

4. Негативний вплив блокаторів синтезу оксиду азоту на стан печінки при її ішемії-реперфузії, ймовірно, пов'язаний з інгібуванням процесу утворення ендogenous оксиду азоту, про що свідчить подальше зменшення вмісту в печінці й крові його стабільного метаболіту NO₂⁻, що більшою мірою проявляється при введенні N-нітро-L-аргініну – блокатора як індукцибельної, так і конститутивних ізоформ NOS.

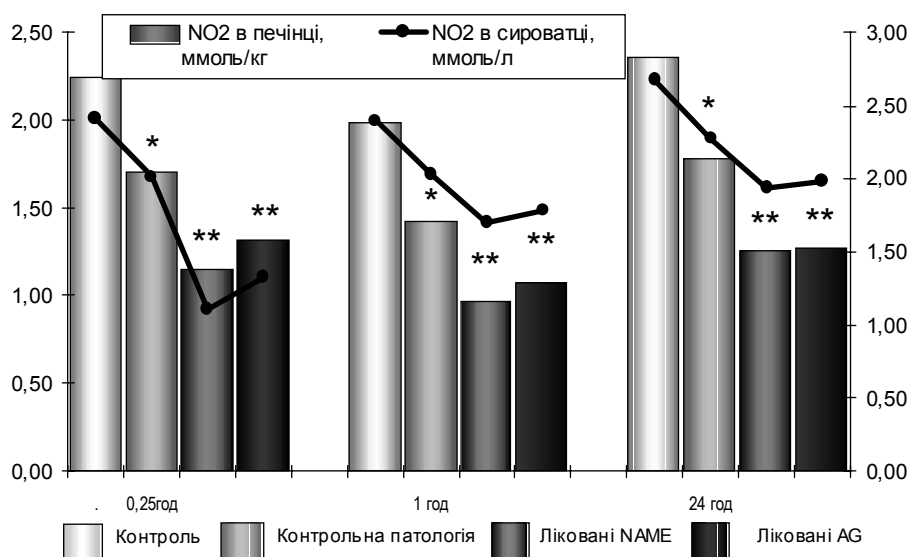


Рис. 1. Зміни вмісту нітрит-аніона в тканинах під впливом N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину при ішемічно-реперфузійному пошкодженні печінки.

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. Бєленічев І.Ф., Дмитряков В.А., Бєляєва О.О., Яцун В.В. Роль оксиду азоту в регулюванні фізіологічних функцій у нормі та при ішемічній патології // Військова медицина України. – 2002. – **2**, № 3. – С.48-52.
3. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов. – М.: Медицина, 1989. – 368 с.
4. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33-35.
5. Дрогвоз С.М., Губський Ю.І., Скакун М.П. та ін. Експериментальне вивчення жовчогінної, холеспазмолітичної, холелітіазної та гепатопротекторної активності нових лікарських засобів // У кн.: Доклінічні дослідження лікарських засобів (метод. рекомендації). За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – С. 334-351.
6. 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.
7. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
8. Кривченкова Р.С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий // Современные методы в биохимии Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 47-49.
9. Орлова Е.А. Анализ нитритов и нитратов в ткани при экспериментальной острой почечной недостаточности // Укр. жур. екстремальної медицини ім. Г.О. Можаява. – 2002. – **3**, № 1. – С. 79-82.
10. Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Функциональное состояние эндотелия при ишемии-реперфузии // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2000. – **86**, № 2. – С. 148-163.
11. Савченкова Л.В. Биохимические основы патогенеза гипоксического синдрома // Укр. мед. альманах. – 1998. – № 1. – С. 90-98.
12. 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.
13. Alderton W.K., Copper C.E., Knowles R.G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition // Biochem. J. – 2001. – **357**, № 3. – P. 593-615.
14. Cottart C.H., Do L., Blancet M.C. et al. Hepatoprotective effect of endogenous nitric oxide during ischemia- reperfusion in the rat // Hepatology. – 1999. – **29**, № 3. – P. 809-813.
15. Cottart C.H., Nivet-Antoine V., Do L. et al. Hepatic cytoprotection by nitric oxide and the cGMP pathway after ischaemia-reperfusion in the rat // Nitric Oxide. – 2003. – **2**, № 5. – P. 57-63.
16. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – № 82. – P. 70-77.
17. Garcia-Estan J., Ortiz M.C., Lee S.S. Nitric oxide and renal and cardiac dysfunction in cirrhosis // Clin. Sci. (Lond). – 2002. – **102**, № 2. – P.213-222.
18. Inglott F.S., Mathie R.T. Nitric oxide and hepatic ischemia-reperfusion injury // Hepatogastroenterology. – 2000. – **47**, № 36. – P. 1722-1725.
19. Beneficial effects of inducible nitric oxide synthase inhibitor on reperfusion injury in the pig liver Isobe M., Katsuramaki T., Hirata K. et al. // Transplantation. – 1999. – **68**, № 6. – P. 803-813.
20. Kimura H., Katsuramaki T., Isobe M. et al. Role of inducible nitric oxide synthase in pig liver transplantation // J. Surg. Res. – 2003. – **111**, № 1. – P. 28-37.
21. Koeppel T.A., Thies J.C., Schemmer P. et al. Inhibition of nitric oxide synthesis in ischemia-reperfusion of the rat liver is followed by impairment of hepatic microvascular blood flow // J. Hepatol. – 1997. – **27**, № 1. – P. 163-169.
22. Does upregulation of inducible nitric oxide synthase play a role in hepatic injury? Lui T.H., Robinson E.K., Helmerat K.S. et al. // Shock. – 2002. – **18**, № 6. – P. 549-554.
23. Marcelo N., Wallace M.L., Wallace J.L. Therapeutic potential of nitric oxide donors and inhibitors // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 1999. – **276**, № 6. – P.1313-1316.
24. Morisue A., Wakabayashi G., Shimazu M. et al. The role of nitric oxide after a short period of ischemia-reperfusion // S. Surg. Res. – 2003. – **109**, № 2. – P. 101-109.
25. Shimamura T., Zhu Y., Zhang S. et al. Protective role of nitric oxide in ischemia and reperfusion injury of the liver // J. Am. Coll. Surg. – 1999. – **188**, № 1. – P. 43-52.
26. Taylor B.S., Alarcon L.H., Billiar T.R. Inducible nitric oxide synthase in the liver: regulation and function // Biochemistry. – 1998. – **63**, № 7. – P. 766-781.
27. Wang Y., Lawson J.A., Jaeschke H. Differential effect of 2-aminoethyl-isothioureia, an inhibitor of the inducible nitric oxide synthase, on microvascular blood flow and organ injury in models of hepatic ischemia-reperfusion and endotoxemia // Shock. – 1998. – **10**, № 1. – P. 20-25.
28. Zilan A., Cetinkale O., Kiran B. et al. The role of supplementation or inhibition of nitric oxide production in burn injury to reduce ischemic damage // Ulus Travma Derg. – 2003. – **9**, № 3. – P. 169-175.

ВЛИЯНИЕ БЛОКАТОРОВ СИНТЕЗА ОКСИДА АЗОТА НА СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ ПРИ ЕЕ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОМ ПОВРЕЖДЕНИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Л.Й. Плосканич

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Блокаторы синтеза оксида азота (*N*-нитро-*L*-аргинин или аминогуанидин) при их предварительном введении приводили к уменьшению содержания нитрит-аниона и нарастанию проявлений экспериментального ишемически-реперфузионного повреждения печени, что проявлялось последующей активацией процессов перекисного окисления липидов и угнетением антиоксидантных резервов с одновременным снижением активности энергообеспечивающих процессов в митохондриях. Степень негативного влияния на состояние печени при ее ишемии-реперфузии в случае применения неселективного блокатора *NO*-синтазы *N*-нитро-*L*-аргинина была выше, чем при введении селективного ингибитора индуцибельной изоформы данного фермента аминогуанидина.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ишемия-реперфузия печени, оксид азота, *N*-нитро-*L*-аргинин, аминогуанидин, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, ферменты митохондрий.

INFLUENCE OF NITRIC OXIDE SYNTHESIS BLOCKERS ON THE LIVER CONDITION IN EXPERIMENTAL ISCHEMIC-REPERFUSION INJURY

L.Y. Ploskanych

TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I. YA. HORBACHEVSKY

Summary

Previous introduction of nitric oxide synthesis blockers (*N*-nitro-*L*-arginin or aminoguanidin) resulted in the decline of nitric-anion content and growth of manifestations of experimental ischemic-reperfusion injury of the liver. It showed up the subsequent activating of lipid peroxidation processes and antioxidant reserves oppression with the simultaneous decline of energy supplying processes activity in mitochondrias. The Degree of negative influence on the liver condition in ischemic-reperfusion injury was higher at application of unselective *NO* synthase blocker *N*-nitro-*L*-arginin, than at introduction of selective blocker of inducible isoform of mentioned enzyme aminoguanidin.

KEY WORDS: ischemia-reperfusion of liver, nitric oxide, *N*-nitro-*L*-arginin, aminoguanidin, lipid peroxidation, antioxidant protection, enzymes of mitochondrias.

Отримано 07.11.2005 р.

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

СЕЗОННІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ТА ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ

О.М. Пилипчак, Т.С. Брюзгіна

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ.

Досліджено вплив атенололу на жирнокислотні спектри ліпопротеїнів низької густини сироватки крові хворих на ішемічну хворобу серця у зимовий та літній періоди. Встановлено достовірне зростання рівня насичених жирних кислот та зменшення вмісту ненасичених жирних кислот, що свідчить про вплив атенололу на активність ліполізу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ліпіди, ліпопротеїни, сироватка, жирні кислоти, атенолол, ішемічна хвороба серця.

ВСТУП. Сезонні особливості перебігу ішемічної хвороби серця (ІХС) відображають загальнобіологічні адаптивні реакції, які у певних межах забезпечують пристосування до несприятливих умов середовища. Генетично закріплені сезонні ритми відомі для багатьох гормонів, зокрема тих, що контролюють обмін ліпідів, забезпечують ефективний енергетичний метаболізм залежно від поточних потреб і, таким чином, формують сезонні ритми ліпідів [4, 6]. У свою чергу, ліпіди відіграють основну роль у розвитку атеросклерозу (зокрема, ліпопротеїни низької густини (ЛПНГ)) та захворювань, з ним асоційованих. Відповідно, сезонність чітко простежується для інфарктів та інсультів [1, 7].

Метою нашого дослідження був аналіз впливу атенололу на жирнокислотні спектри ЛПНГ сироватки крові хворих на ІХС у зимовий та літній періоди року.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Під наглядом перебували хворі на ІХС (стенокардія напруги ФК II-III), які перебували на обстеженні й лікуванні у кардіологічному відділенні в літній (21 хворий – 9 жінок і 12 чоловіків) та зимовий (19 хворих – 7 жінок і 12 чоловіків) періоди. Середній вік пацієнтів ($65 \pm 1,2$) року. Газохроматографічним методом [2] досліджено найбільш інформативні вищі жирні кислоти (ВЖК) ліпідів ЛПНГ сироватки крові: насичені – пальмітинову ($C_{16:0}$) і стеаринову ($C_{18:0}$); мононенасичену – олеїнову ($C_{18:1}$); поліненасичені –

лінолеву ($C_{18:2}$) й арахідонову ($C_{20:4}$) (значення у %), а також холестерин (у мг/мл).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У літній період 47,6 % хворих було госпіталізовано за екстремними показаннями, а 52,4 % – планово для обстеження за вимогою МСЕК, тоді як у зимовий період екстремно госпіталізовано 84,2 %. Хворі, госпіталізовані за екстремними показаннями, тривалий час приймали нітрати (головним чином – нітросорбід) і мали клінічні прояви толерантності до нітратів (зменшення ефективності таблеток нітрогліцерину, збільшення частоти нападів стенокардії без зміни толерантності до фізичного навантаження). Крім того, у літній період у 2 хворих спостерігались пароксизми миготливої аритмії під час лікування у стаціонарі, а в зимовий у 5 пацієнтів визначались симпато-адреналові гіпертонічні кризи до госпіталізації.

На момент госпіталізації холестерин ЛПНГ у групі літнього періоду складав ($0,199 \pm 0,04$) мг/мл і достовірно не відрізнявся від зимового – ($0,188 \pm 0,04$) мг/мл. Жирнокислотні спектри ЛПНГ значно відрізнялись у зимовий і літній періоди (таб. 1). У зимовий період зниження рівня пальмітинової – на 7,9 %, стеаринової – на 5,5 %, олеїнової – на 5 % та лінолевої – на 10,7 % забезпечило зростання арахідонової ЖК на 28,8 %. Причому в літній період жирнокислотні спектри хворих, порівняно зі здоровими достовірно не відрізнялись (тенденція до зниження рівня $C_{20:4}$ у хворих –

різниця 4,7 %). У зимовий період вони значно відрізнялись від таких у здорових: у хворих спостерігались зменшення вмісту пальмітинової ЖК на 13,6 % ($p < 0,01$), олеїнової – на 3,5 % ($p < 0,01$), лінолевої – на 7,4 % ($p < 0,05$) та збільшення рівня арахідонової ЖК на 26,1 % ($p < 0,01$), що призвело до сумарного зниження вмісту насичених жирних кислот (НЖК) на 14,8 % ($p < 0,01$) за рахунок зростання рівня поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) на 18,3 % ($p < 0,01$).

У серцевому м'язі 60-80 % АТФ утворюються з ЖК (пальмітинової та олеїнової) за умови адекватного надходження кисню та субстратів окиснення. Адаптація до холоду передбачає переключення превалюючих субстратів фосфорилування з глюкози на ЖК, як більш енергетично вигідні. Жиромобілізувальний ефект значною мірою забезпечують катехоламіни, активуючи ліпопротеїназу, концентрація якої особливо висока у міокарді. Катехоламіни, з одного боку, забезпечують ліполіз тригліцеридів ліпопротеїнів сироватки крові й високу концентрацію ЖК, з іншого – додатково підвищують потребу в кисні через збільшення частоти серцевих скорочень (ЧСС) та артеріального тиску (АТ). В обстежених хворих ЧСС при госпіталізації у літній період складала $(78,7 \pm 4,0)$ уд. за хвилину, що достовірно менше порівняно із зимовим періодом – $(89,2 \pm 3,0)$ ($p < 0,05$), систолічний АТ – $(178,2 \pm 7,2)$ та $(151,4 \pm 5,9)$ мм рт. ст. відповідно ($p < 0,05$).

Усі хворі отримували кардіоселективний β -блокатор атенолол з першого дня перебування у стаціонарі. АТ нормалізувався у першу добу, а протягом тижня ЧСС складала менше 60 уд. за хвилину, але у зимовий період хворі потребували більших доз атенололу для досягнення однакового з літнім результату. В здорових людей приймання атенололу протягом тижня нівелює гемодинамічні ефекти наступного введення адреналіну, але суттєво не впливає на метаболізм ліпідів, хоча може зменшувати вміст холестерину ліпопротеїдів високої густини (ЛПВГ) і підвищувати рівень тригліцеридів плазми, не змінюючи загального вмісту холестерину [5].

Жирнокислотні спектри ЛПНГ хворих на стенокардію через 2 тижні лікування атенололом представлено в таб. 2. Сезонна різниця жирнокислотних спектрів ЛПНГ у хворих залишалась достовірною і складала для пальмітинової ЖК 5,5 %, стеаринової 4,9 %, олеїнової – 4,3 % (влітку вищі, ніж взимку), лінолевої – на 5,5 % і арахідонової – 13,8 % (взимку були вищими за літні значення, тобто спостерігалось

відносне збільшення вмісту $C_{18:2}$ при зменшенні рівня $C_{20:4}$).

Лікування атенололом у літній період призвело до достовірного зростання рівня пальмітинової ЖК на 6 % ($p < 0,05$) і зменшення вмісту лінолевої ЖК на 6,7 % ($p < 0,01$) та арахідонової ЖК на 3,6 % ($p = 0,05$), що забезпечило вірогідне збільшення суми НЖК на 8,6 % ($p < 0,01$) за рахунок сумарного зниження рівня ПНЖК на 10,4 % ($p < 0,01$). Жирнокислотний спектр ЛПНГ групи хворих після лікування відрізнявся від такого у групі здорових: рівні стеаринової та олеїнової ЖК у хворих були достовірно вищими, ніж у здорових (відповідно, на 4,9 і 3,3 %), а вміст арахідонової ЖК у хворих був вірогідно нижчим, ніж у здорових (на 8,8 %). Загалом, сума НЖК у хворих у літній період була достовірно вищою за таку у здорових на 11 %, причому рівень ПНЖК у здорових у літній період був вищим, ніж у хворих, на 14,2 %. Вміст холестерину ЛПНГ невірогідно збільшився до $(0,297 \pm 0,06)$ мг/мл.

Лікування атенололом у зимовий період не призвело до змін вмісту холестерину, але спостерігався більш виражений перерозподіл ЖК: рівень пальмітинової ЖК зріст на 4,8 % ($p < 0,05$), стеаринової – на 2,1 % ($p < 0,05$), олеїнової – на 2,5 % ($p < 0,05$), лінолевої – на 9,2 % ($p < 0,01$), а рівень арахідонової ЖК знизився на 18,6 % ($p < 0,01$), що забезпечило сумарне зменшення НЖК на 6,9 % ($p < 0,01$) за рахунок зростання вмісту ПНЖК на 10,5 % ($p < 0,01$). Порівняно з групою здорових достовірна різниця була такою: вміст пальмітинової ЖК у хворих був меншим на 8,8 %, арахідонової – більшим на 7,5 %, НЖК меншою на 7,9 %, сума ПНЖК – більшою на 8,8 % за відповідні показники у здорових.

Очевидно, атенолол дещо знижує активність ліполізу, в результаті чого зменшується використання $C_{16:0}$ у літній період, а у зимовий – $C_{16:0}$, $C_{18:0}$ і $C_{18:1}$, що змінює загальне співвідношення НЖК і ненасичених жирних кислот (ННЖК). Поглинання ЛПНГ забезпечується ендоцитозом, причому клітинна рецепція тим краща, чим більше у жирнокислотному спектрі ННЖК [3]. Однак надмірна частка ННЖК робить ЛПНГ вразливими до перекисного окиснення ліпідів, яке призводить до їх окисної модифікації. У здорових людей зберігається оптимальний баланс між НЖК та ННЖК, який забезпечується узгодженою дією нейроендокринної системи. При порушенні цього балансу буде спостерігатись або зростання рівня ЛПНГ (якщо має місце надлишок НЖК), або посилення окисної модифікації ЛПНГ (надлишок

Таблиця 1 – Жирнокислотні спектри ліпідів ЛПНГ до початку лікування атенололом (%)

Назва ЖК	Літній період		Зимовий період	
	Хворі n=21	Здорові n=8	Хворі n=19	Здорові n=8
C 16:0	33,2±1,3	33,9±2,1	25,3±1,4*	38,9±2,1^
C18:0	14,3±0,5	11,3±0,7	9,2±0,6*	10,3±0,7
C18:1	16,8±1,1	15,3±0,9	11,8±0,6*	15,3±0,9^
C18:2	25,7±1,0	23,3±2,1	15,0±1,6*	22,4±2,1^^
C20:4	9,9±0,9	15,1±1,6	38,7±3,4#	12,6±1,6^
Сума НЖК	47,5±1,3	45,1±1,7	34,5±1,9#	49,3±1,7^
Сума ННЖК	52,5±1,3	54,9±1,7	65,5±1,9*	50,7±1,7^
Сума ПНЖК	35,7±1,5	39,5±2,2	53,7±2,5*	35,4±2,2^

Примітка. достовірна відмінність між групами хворих літнього і зимового періодів * – p<0,01, # – p<0,05; достовірна відмінність між групами хворих і здорових одного сезону: ^ – p<0,01, ^^ – p<0,05.

Таблиця 2 – Жирнокислотні спектри ліпідів ЛПНГ через 2 тижні лікування хворих атенололом (%)

Назва ЖК	Літній період		Зимовий період	
	Хворі n=21	Здорові n=8	Хворі n=19	Здорові n=8
C 16:0	39,2±2,1	33,9±2,1	30,1±0,9*	38,9±2,1^^
C18:0	16,2±1,0	11,3±0,7^^	11,3±0,3*	10,3±0,7
C18:1	18,6±1,0	15,3±0,9^	14,3±0,5*	15,3±0,9
C18:2	19,0±1,8	23,3±2,1	24,2±0,9#	22,4±2,1
C20:4	6,3±0,6	15,1±1,6^	20,1±1,3*	12,6±1,6^^
Сума НЖК	56,1±2,3	45,1±1,7^^	41,4±0,8*	49,3±1,7^^
Сума ННЖК	43,9±2,3	54,9±1,7^^	58,6±0,8*	50,7±1,7^^
Сума ПНЖК	25,3±2,1	39,5±2,2^	44,2±0,9*	35,4±2,2^^

Примітка. Достовірність різниці між групами літнього і зимового періодів: * – p<0,01, # – p<0,05; достовірна відмінність між групами хворих і здорових одного сезону ^ – p<0,01, ^^ – p<0,05.

ННЖК). В обох випадках посилюватиметься прогресування атеросклерозу.

Атенолол визнано ефективним препаратом, що впливає на тривалість життя у хворих, які перенесли інфаркт міокарда (клас I, рівень доказів A). Можливо, його постійне використання сприяє підтриманню необхідного співвідношення насичених і ненасичених ЖК за рахунок зниження активності ліполізу, зменшення β-окиснення ЖК та включення в енергетичний обмін глюкози. В обстежених хворих спостерігалась сезонна різниця у ліпідному метаболізмі як до лікування атенололом, так і через 2 тижні після нього. У літній період атенолол достовірно підвищував ненасиченість

жирнокислотних спектрів, що може клінічно проявлятися аритміями, а у зимовий період зменшував ненасиченість жирнокислотних спектрів, хоча не до рівня здорових.

ВИСНОВКИ. 1. Жирнокислотні спектри ЛПНГ сироватки крові є більш чутливим індикатором, ніж холестерин, для оцінки змін ліпідного метаболізму у хворих на ІХС до і після лікування атенололом.

2. Оскільки у зимовий період хворих частіше госпіталізують за екстремними показаннями на тлі активації симпатно-адреналової системи, доцільно збільшувати дози β-блокаторів на цей час.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гимоян Л.Г. Сезонные колебания частоты смертей от цереброваскулярных заболеваний и инфаркта миокарда // Укр. кард. журн. – 2004. – № 2. – С. 68-72.
2. Гичка С.Г., Брюзгина Т.С., Вретик Г.М., Рева С.Н. Газохроматографический метод определения липидных показателей крови при ишемической

болезни сердца // Укр. кард. журн. – 1998. – № 7. – С. 50-52.

3. Зандер Д.Р. Коррекция липидных нарушений. – М: Медицина, 2001–192 с.

4. Комаров Ф.И., Раппопорт С.И. Хронобиология и хрономедицина. – М.: Триада-Х, 2000. – 488 с.

5. Чекман И.С. Биохимическая фармакодина-

мика. – К.: Здоров'я, 1991. – 200 с.

6. Ockene I.S., Chiriboga D.E., Stanek E.J., et al. Seasonal variation in serum cholesterol levels // Arch. Intern. Med. – 2004. – **164**, Apr 26. – P. 863-870.

7. Peters R.W., Brooks M.M., Zoble R.G. et al. Chronobiology of acute myocardial infarction: cardiac arrhythmia suppression trial (CAST) experience // The American Journal of Cardiology. – 1996. – 78, № 11. – P. 1198-1201.

СЕЗОННЫЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ И ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Е.М. Пилипчак, Т.С. Брюзгина

НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА

Резюме

Исследовано влияние атенолола на жирнокислотные спектры липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) сыворотки крови больных с ишемической болезнью сердца в зимний и летний периоды. Установлен достоверный рост уровня насыщенных жирных кислот и уменьшение содержания ненасыщенных жирных кислот, что свидетельствует о влиянии атенолола на активность липолиза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: липиды, липопротеины, сыворотка, жирные кислоты, атенолол, ишемическая болезнь сердца.

SEASONAL SPECIFICITY OF COURSE AND TREATMENT OF PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE

O.M. Pylypchak, T.S. Bryuzgina

NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLETS

Summary

The influence of atenolol on fatty-acids spectra of low-density lipoproteids (LDL) of blood serum in patients with ischemic heart disease in the summer and in the winter periods has been studied. Significant increase of the level of saturated fatty acids and decrease of contents of unsaturated fatty acids has been established which testifies to atenolol influence on lipolysis activity.

KEY WORDS: lipids, lipoproteids, blood serum, fatty acids, atenolol, ischemic heart disease.

Отримано 30.09.2005 р.

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

ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД ЛІПІДІВ У СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ СТАРИХ ЩУРІВ ПРИ НОЦИЦЕПТИВНІЙ РЕАКЦІЇ ЗА УМОВ ТИРЕОПАТИЧНОГО СТАНУ

О.М. Демченко

ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

Вивчено вплив ноцицептивної реакції за умов тиреопатичного стану (тиреотоксикозу і гіпотиреозу) на жирнокислотний склад ліпідів у структурах головного мозку (кора великих півкуль і гіпокамп) старих щурів (20-22 міс.). Тиреотоксикоз моделювали шляхом введення з їжею L-тироксину, починаючи з 10 мкг/добу і збільшуючи щоденно на 10 мкг порівняно з попередньою дозою; гіпотиреоз – шляхом введення мерказолілу (10 мг/кг маси) впродовж 2 тижнів з подальшим контролем за тироксином у сироватці крові імуноферментним методом. Встановлено, що перебіг гострого післяопераційного синдрому (лапаротомія) за умов тиреопатичного стану супроводжувався підвищенням порога больового реагування, яке було більшим на фоні тиреотоксикозу. Відмічено, що тиреопатичний стан у післяопераційному періоді характеризувався розвитком дезадаптації, яка проявлялась амнезією умовно-рефлекторної реакції, особливо за умов гіпотиреозу. Це корелювало зі змінами спектра жирних кислот, які були більш вираженими в гіпокампі гіпотиреоїдних щурів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: тиреотоксикоз, гіпотиреоз, післяопераційний больовий синдром, центральна нервова система, вільні жирні кислоти.

ВСТУП. Вивченню ролі гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної системи у формуванні реакцій адаптації організму за різних умов присвячено значну кількість досліджень, які дають підстави для розкриття механізмів компенсаторних і патологічних процесів та пошуку шляхів і методів корекції при екстремальних станах [7, 9, 10]. Як свідчать дослідження біології та медицини, одним із провідних патогенетичних механізмів у розвитку цілої низки патологічних станів є порушення мембранних процесів, зокрема обміну ліпідів – компонентів мембран [2, 6]. Зміни в ліпідному бішарі мембрани в утворах головного мозку можуть спричинити розлади адаптивних процесів організму, оскільки при цьому порушується активність маркерних ферментів та іонних каналів [2, 6, 11].

У ході попередніх досліджень нами було показано залежність ноцицептивної відповіді за умов тиреопатичного стану в процесі онтогенезу [5].

Метою цієї роботи було вивчення складу жирних кислот у головному мозку при гострому післяопераційному стані за умов дисфункції цитоподібної залози у старих тварин.

© О.М. Демченко, 2006.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на 48 щурах (20-22 місяці, за класифікацією В.Г. Западнюка) обох статей. Перша група (тиреотоксикоз) включала 24 тварини, яких було розподілено на 4 підгрупи: 1-ша – інтактні; 2-га – інтактні + лапаротомія; 3-тя – інтактні щури, яким вводили тироксин для формування модельного тиреотоксикозу; 4-та – тварини, яким на фоні тиреотоксикозу проводили лапаротомію.

Друга група (гіпотиреоз) також становила 4 серії (по 6 тварин у кожній): 1-ша – інтактні; 2-га – інтактні + контрольна лапаротомія; 3-тя – інтактні, у яких формували гіпотиреоз; 4-та – щури, яким на фоні гіпотиреозу проводили лапаротомію.

Тиреотоксикоз і гіпотиреоз моделювали за методами, описаними раніше [4,5].

Оцінку відтворення тиреотоксикозу і гіпотиреозу проводили на основі визначення в сироватці крові концентрації T_4 та ТТГ імуноферментним методом та клінічного статусу тварин.

За модель ноцицептивного стану було обрано лапаротомію [5], що максимально наближена до клінічної ситуації і дозволяє досліджувати больову реакцію. З метою виключення

післядії анестетика (ефірний наркоз) щурів брали в дослід через 12-14 год після оперативного втручання.

Для оцінки вищої нервової діяльності використовували тест умовної реакції пасивного уникнення (УРПУ) [1], а визначення больового порога проводили за вокалізацією у відповідь на електричне подразнення кореня хвоста щура, яке [13] постійно наростає.

Тварин декапітували, і брали мозок, відповідно, з гіпокампу і кори великих півкуль. Екстракцію ліпідів проводили за методом Фолча. Детально приготування тканини мозку описано в нашій роботі [4]. Визначення вільних жирних кислот проводили методом газохроматографічного аналізу на хроматографі CHROM-5 в ізотермічному режимі з полум'яно-іонізуючим детектором на колонці 5·1000 мм із сорбентом хромотон-N-super 5 % SE-2100. Жирні кислоти виявляли в температурному діапазоні від 185 до 250 °C при лінійному безперервному підвищенні температури на 5 °C за хвилину. Як внутрішні стандарти використовували набір метилових ефірів жирних кислот ("Sigma" США), повторність дослідів була 3-5-кратною. Під час роботи дотримувалися етичних принципів досліджень Міжнародної асоціації з вивчення болю в експериментальних тварин.

Статистичну обробку результатів проводили з використанням математичного аналізу програми EXCEL.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Нами встановлено, що активація ноцицептивної системи (лапаротомія) характеризувалась зниженням больового порога в інтактних тварин у межах від (1,36±0,04) до (1,20±0,04) (-12 %, p<0,05). За умов тиреотоксикозу, навпаки, лапаротомія супроводжувалась зростанням величини больового порогу на 26% (p<0,05), що дає підстави зробити висновок про те, що гіперфункція щитоподібної залози впливає на ноцицептивну реакцію організму, можливо, через активацію моноамінергічних механізмів антиноцицептивної системи [8]. Показники мнестичних процесів при цьому суттєво не змінювались порівняно з інтактними тваринами, яким проводили лапаротомію.

Перебіг післяопераційного больового синдрому супроводжувався незначними змінами вмісту жирних кислот у корі головного мозку та гіпокампі. У неокортексі відмічено зниження рівня ненасичених кислот – пальмітолеїнової та лінолевої і ліноленової – (p<0,05). На відміну від цього, в гіпокампі суттєво зростав рівень лінолевої та ліноленової (+156 %, p<0,05),

трикозанової (+113 %, p<0,05) та пальмітинової (+26 %, p<0,05) кислот.

Дія ноцицептивного фактора (лапаротомія) за умов тиреотоксикозу не проявлялась вираженими змінами спектра жирних кислот, за винятком лише пентадецилової, вміст якої зменшився на 40 % (p<0,05), в неокортексі, та міристинової (C_{14:0}) – на 46 % (p<0,05) в гіпокампі (порівняно "гіпертиреозом").

Тиреоїдна недостатність суттєвим чином впливала на показник ноцицептивної реакції. У контрольних тварин (гіпотиреоз) величина больового порога підвищувалась на 14 % (p<0,05) і коливалась у межах (1,23±0,05) порівняно з вихідним рівнем (1,08±0,05). У гіпотиреоїдних щурів за умов лапаротомії величина больового порога зростає на 23 % (p<0,05) порівняно з вихідним станом.

Заслугує уваги те, що активація ноцицептивного фактора (лапаротомія) у гіпотиреоїдних тварин супроводжувалась значними розладами мнестичних функцій, що проявлялось амнезією умовно-рефлекторного навичку. Так, якщо при гіпотиреозі кількість амнезованих щурів становила 39 % (p<0,05), то за умов "гіпотиреоз+лапаротомія" – 69 % (p<0,05).

Порушення інтегративної діяльності центральної нервової системи (ЦНС) корелювало з більш вираженими змінами процесів метаболізму ліпідів за даних умов, зокрема в гіпокампі. При цьому встановлено (табл. 1, 2) зниження вмісту насичених C_{15:0}, C_{17:0} і ненасичених C_{18:2,3} кислот в межах 39, 36 і 80 % відповідно (p<0,05). Одночасно концентрація C_{16:0}, C_{18:1}, C_{18:0}, C_{19:0}, C_{24:0} зростала в межах 44-60 % (p<0,05), а C_{24:0} – в 2,5 раза. Підвищувався рівень і загальних ліпідів на 50 % (p<0,05) відносно контрольних тварин (гіпотиреоз).

Таким чином, перебіг гострого післяопераційного синдрому в старих щурів за умов тиреопатичного стану супроводжувався розвитком мнестичних розладів, які були більш вираженими у гіпотиреоїдних щурів. За умов гіпотиреозу ноцицептивна реакція (лапаротомія) супроводжувалась змінами спектра жирних кислот у гіпокампі, в тому числі й ненасичених C_{18:1}, C_{18:2,3}, що може призводити до порушення функціональних властивостей мембран. Ці факти дають підстави вважати, що фосфоліпіди гіпокампу можуть бути об'єктами тиреопатичних станів [4].

Незважаючи на серйозність наслідків гіпотиреоїдизму, молекулярні основи, дія тиреоїдних гормонів на головний мозок залишаються на сьогодні невідомими. Головним ефектом гіпотиреозу є виражене гальмування синтезу

Таблиця 1 – Жирнокислотний склад (%) ліпідів у корі великих півкуль старих щурів (M±m)

Жирні кислоти	Біль (n=6)	Контроль (n=6)	Гіпертиреоз + біль (n=6)	Гіпертиреоз (n=6)	Гіпотиреоз + біль (n=6)	Гіпотиреоз (n=6)
Лауринова C _{12:0}	0,02±0,01	0,02±0,01	0,02±0,01	0,03±0,01	0,05±0,005*	0,02±0,006
Міристинова C _{14:0}	0,10±0,02	0,13±0,03	0,15±0,03	0,14±0,03	0,16±0,04	0,15±0,03
Пентадецилова C _{15:0}	1,08±0,24	1,29±0,04	1,08±0,21*	1,80±0,19	1,03±0,32	0,90±0,04
Пальмітолеїнова C _{16:1}	0,27±0,04*	0,40±0,03	0,43±0,03	0,33±0,09	0,36±0,03	0,45±0,06
Пальмітинова C _{16:0}	12,95±0,58	11,70±0,84	14,46±1,34	14,73±2,29	15,11±0,41	16,57±1,69
Маргарінова C _{17:0}	2,03±0,17	2,83±0,38	2,78±0,57	2,13±0,83	2,27±0,18	1,79±0,19
Олеїнова C _{18:1}	10,31±0,59	9,88±0,52	11,36±1,22	11,29±1,36	12,19±0,57	12,07±1,15
Стеаринова C _{18:0}	10,28±1,00	8,65±0,70	11,12±1,13	10,83±1,00	12,96±1,01	13,64±1,89
Лінолева+ ліноленова C _{18:2,3}	0,35±0,05*	1,36±0,29	0,57±0,10	0,51±0,20	0,55±0,08	0,35*±0,11
Нонадеканова C _{19:0}	6,21±0,60	6,40±0,86	5,65±0,90	6,34±0,92	7,34±0,54	7,38±0,76
Арахідова C _{20:0}	0,13±0,02	0,17±0,05	0,33±0,02	0,50±0,07	0,13±0,04	0,23±0,11
Гейкозанова C _{21:0}	8,58±1,22	9,95±0,90	9,57±1,33	7,78±1,28	12,03±0,73	12,25±1,63
Бегенова C _{22:0}	0,78±0,06	0,67±0,13	0,72±0,11	0,62±0,29	0,62±0,04*	0,33±0,02
Трикозанова C _{23:0}	0,10±0,06	0,09±0,03	0,18±0,01	0,29±0,05	0,11±0,06	0,07±0,03
Тетракозанова C _{24:0}	3,33±0,17	2,50±0,65	2,80±0,5	3,10±0,90	3,39±0,80	3,00±0,83
Пентакозанова C _{25:0}	43,48±3,86	43,96±5,44	38,72±3,77	39,58±5,56	31,74±4,76	30,80±2,19
Загальні ліпіди	10,89±0,86	11,07±1,63	7,80±0,93	9,26±0,50	11,35±1,10	9,87±1,73
ненасичених	10,93±0,80	11,64±1,20	12,36±1,11	12,13±0,87	13,10±0,88	12,87±0,83
насичених	89,07±0,80	88,36±1,22	87,64±1,10	87,88±1,00	86,90±0,90	87,13±0,84

Примітка. Тут і далі: * p<0,05 порівняно з гіпо- і гіпертиреозом або контролем.

Таблиця 2 – Жирнокислотний склад (%) ліпідів у гіпокампі старих щурів (M±m)

Жирні кислоти	Біль (n=6)	Контроль (n=6)	Гіпертиреоз + біль (n=6)	Гіпертиреоз (n=6)	Гіпотиреоз + біль (n=6)	Гіпотиреоз (n=6)
Лауринова C _{12:0}	0,07±0,01	0,06±0,04	0,04±0,01	0,07±0,04	0,05±0,01	0,07±0,05
Міристинова C _{14:0}	0,05±0,01	0,04±0,03	0,16±0,01	0,11±0,01	0,05±0,02	0,05±0,03
Пентадецилова C _{15:0}	2,23±0,50	2,02±0,32	2,8±0,68	1,95±0,29	1,95±0,27*	3,21±0,39
Пальмітолеїнова C _{16:1}	0,33±0,04	0,30±0,02	0,38±0,05	0,41±0,04	0,37±0,03	0,24±0,05
Пальмітинова C _{16:0}	13,69±0,77*	10,86±0,67	10,10±0,99	11,37±1,41	11,13±1,11*	7,75±0,73
Маргарінова C _{17:0}	2,31±0,61	2,57±0,51	3,18±0,78	1,95±0,23	2,13±0,29*	4,82±0,62
Олеїнова C _{18:1}	12,28±0,64	11,42±0,44	10,31±0,95	11,12±1,36	10,74±1,04*	7,47±1,05
Стеаринова C _{18:0}	10,07±0,81	8,46±0,76	7,86±0,43	8,98±0,95	9,35±0,94*	5,91±0,61
Лінолева+ ліноленова C _{18:2,3}	0,92±0,17*	0,36±0,07	0,35±0,06	0,46±0,12	0,46±0,03*	1,65±0,33
Нонадеканова C _{19:0}	6,93±0,52	6,43±0,64	5,90±0,31	6,44±0,58	7,62±0,5*	4,75±0,31
Арахідова C _{20:0}	0,22±0,05	0,28±0,03	0,27±0,05	0,25±0,09	0,09±0,03	0,29±0,12
Гейкозанова C _{21:0}	8,55±0,70	8,58±1,30	8,13±1,12	8,87±0,90	8,60±1,13	7,04±1,23
Бегенова C _{22:0}	0,76±0,11	0,84±0,20	0,74±0,16	0,86±0,22	0,91±0,26	1,44±0,03
Трикозанова C _{23:0}	0,32±0,04*	0,15±0,05	0,12±0,04	0,22±0,02	0,36±0,05	0,39±0,05
Тетракозанова C _{24:0}	3,21±0,67	3,95±0,26	3,89±0,37	4,08±0,92	3,14±0,60*	0,88±0,15
Пентакозанова C _{25:0}	38,16±2,21	43,31±2,86	45,61±3,95	42,89±3,79	42,97±4,23	54,41±3,45
Загальні ліпіди	12,51±1,04	13,74±1,37	11,73±1,19	12,51±1,04	20,04±1,23*	13,56±1,04
ненасичених	13,53±0,96	12,06±1,07	11,04±0,51	12,00±1,00	11,57±0,91	10,36±1,02
насичених	86,47±86,47	87,94±1,07	88,96±0,50	88,00±1,02	88,43±0,90	89,64±1,02

тичних процесів. Експериментальний гіпотиреоїдизм призводить до повного порушення мієлінізації в усіх ділянках, проліферації клітин і їх міграції, а також формування синапсів [12]. В олігодендроцитах мозку дорослих гіпотиреоїдних щурів має місце зниження рівня мРНК головних мієлінових протейнів, протеоліпідного білка. Розбіжності в характері впливу різного

тиреоїдного статусу (гіпертиреоз, гіпотиреоз) можуть бути обумовлені впливом на α_1 і β_1 – адренергічні реакції [3].

Таким чином, больовий синдром за умов дисфункції щитоподібної залози проявляє модульовальний вплив на ЦНС, змінюючи її адаптивні процеси.

ВИСНОВКИ. 1. Гіпертоксикоз і гіпотиреоз у старих щурів за умов ноцицептивного стану призводять до розвитку дезадаптаційних реакцій, які більше виражені при гіпотиреозі.

2. Порушення мнестичних процесів за умов експериментального гіпотиреозу в післяопераційному періоді супроводжувалось значними змінами спектра жирних кислот у гіпокампі.

ЛІТЕРАТУРА

1. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. – М.: Высшая школа, 1991. – 299 с.
2. Гуринов В.Н. Обмен липидов при гипотермии, гипертермии и лихорадке. – Мн.: Беларусь, 1986. – 190 с.
3. Девяткова Ю.А., Соболев В.И. Состояние α_1 -адренергической реакции при различном тиреоидном статусе // Вісник проблем біології і медицини. – 2002. – Вип. 9-10. – С. 8-11.
4. Демченко О.М., Неруш П.О. Вікові особливості жирнокислотного складу ліпідів в структурах головного мозку за умов гіпотиреоїдного стану // Мед. хімія. – 2005. – 7, № 1. – С. 75-78.
5. Демченко О.М., Неруш П.О. Особливості больової реакції у старих щурів за умов тиреопатичного стану // Тавричеськ. медико-біолог. вестник. – 2004. – 7, № 1. – С. 55-59.
6. Лішневська В.Ю., Брюзгіна Т.С., Коркушко О.В. Вікові зміни жирнокислотного складу мембран еритроцитів // Фізіол. жур. – 2003. – 49, № 6. – С. 47-51.
7. Неговский В.А. Патологическая физиология терминаль-

ных состояний // Патологическая физиология. – Томск, 1994. – С. 23-27.
8. Овсянников В.Г., Зайна Т.А., Кондрух Т.В., Бойченко А.Е. Возрастные особенности формирования адренергической реакции в ЦНС при острой боли // I Российский конгресс по патофизиологии: Тез. докл. – М.: 1996. – С. 52-53.
9. Сапронов Н.С., Федотова Ю.О. Гормоны гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы и мозг. – С.Пб.: Лань, 2002. – 184 с.
10. Шрейбер В. Патологическая физиология желез внутренней секреции. – Прага: Авиценуле, 1987. – 493 с.
11. Marchioli R., Vakzi F., Bomba E., et al. Early protection against sudden death by n-3polyunsaturated fatty acids affor myocardial infarction // Circulation. – 2002. – 105, № 16. – P. 1897-1903.
12. Rami A., Rabie A. Delayed synaptogenesis in the dentate gyrus of the thyroid-deficient developing rat // Der. Nevroschi. – 1990. – 12. – P. 398-405.
13. Vinardel M.P. Methods de valoracion de los farmacos analgesicos // Circ. Farm. – 1989. – 47, № 302. – P. 81-88.

ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЛИПИДОВ В СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА СТАРЫХ КРЫС ПРИ НОЦИЦЕПТИВНОЙ РЕАКЦИИ В УСЛОВИЯХ ТИРЕОПАТИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ

Е.М. Демченко

ДНЕПРОПЕТРОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

Резюме

Изучено влияние ноцицептивной реакции в условиях тиреопатического состояния (тиреотоксикоза и гипотиреоза) на жирнокислотный состав липидов в структурах головного мозга (кора больших полушарий и гиппокамп) старых крыс (20-22 мес.). Тиреотоксикоз моделировали путем введения с пищей L-тироксина, начиная с 10 мкг/сутки и увеличивая ежедневно на 10 мкг по сравнению с предыдущей дозой; гипотиреоз – путем введения мерказолила (10 мг/кг массы) в течение 2 недель с последующим контролем за тироксином в сыворотке крови иммуноферментным методом. Установлено, что течение острого послеоперационного синдрома (лапаротомия) в условиях тиреопатического состояния сопровождалось повышением порога болевой реакции, которое было большим на фоне тиреотоксикоза. Отмечено, что тиреопатическое состояние в послеоперационном периоде характеризовалось развитием дезадаптации, проявлявшейся амнезией условно-рефлекторной реакции, особенно в условиях гипотиреоза. Это коррелировало с изменениями спектра жирных кислот, которые были более выраженными в гиппокампе гипотиреоидных крыс.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: тиреотоксикоз, гипотиреоз, послеоперационный болевой синдром, центральная нервная система, свободные жирные кислоты.

FATTY-ACID COMPOSITION OF LIPIDS IN STRUCTURES OF OLD RATS' BRAIN AT NOCICEPTIVE REACTION IN THE CONDITIONS OF A THYROPATIC STATE

E.M. Demchenko

THE DNEPROPETROVSK STATE MEDICAL ACADEMY

Summary

The influence of nociceptive reaction to the fatty-acid composition of lipids in structures of old (20-22 months) rats' brain (cortex of cerebrum and hippocamp) during of thyropatic state (thyrotoxicosis, hypothyroidism) is investigated.

Thyrotoxicosis formed by introduction with food L-thyroxin in increasing dose (Since 10 mkg/day and increasing daily on 10 mkg in comparison with the last day). Hypothyroidism was formed by adding to food MercazolyI (10 mg/kg) within 2 weeks and final definition of thyroxin in blood serum with the help of immune-enzyme method.

It is shown, that streaming of an acute postoperative syndrome (laparotomy) in conditions of thyropatic states was accompanied by rising of threshold reaction of pain reacting which was higher on a background of a thyrotoxicosis.

It is marked, that thyropatic state was characterized by development of the disadaptation, a showing amnesia of condition-reflex reaction which has been more expressed at a hypothyroidism. It correlated with change of a spectrum of fatty acid which were more expressed in a hippocampus of hypothyroid rats.

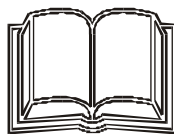
KEY WORDS: thyrotoxicosis, hypothyroidism, postoperative pain syndrome, central nervous system, free fatty acids.

Отримано 05.10.2005 р.

Адреса для листування: О.М. Демченко, кафедра нормальної фізіології, Дніпропетровська державна медична академія, вул. Дзержинського, 9, Дніпропетровськ, 49044, 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" Тернопільського державного медичного університету

ім. І.Я. Горбачевського, майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46001

тел./факс (0352) 52-41-83; тел. 52-78-54

ВПЛИВ УМОВ ГІПОКСІЇ НА ФУНКЦІОНАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ МЕМБРАН ЕРИТРОЦИТІВ ТВАРИН

Н.Є. Панас

ЛЬВІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Вивчали вплив гострої і тривалої нестачі кисню на стійкість еритроцитів до гемолізу за умов кислого середовища, а також деякі показники функціонального стану еритроцитарних мембран лабораторних білих щурів. Установлено, що стан гіпоксії при піднятті на висоту 3500 м н.р.м. ($pO_2=91$ Торр) викликає пригнічення Na^+ , K^+ -АТРазної активності й зменшення кількості пов'язаного з мембранами 2,3-біфосфогліцерату. Подібні зміни в еритроцитах тварин відбувались через гостру нестачу кисню, коли щурів піднімали на відносну висоту 9000 м н.р.м. ($pO_2=32$ Торр), стійкість еритроцитів до гемолізу в кислому середовищі знижувалася. Крім того, встановлено, що в процесі адаптації організму до гіпоксії з крові видаляються старі еритроцити і значно посилюється приплив у кров молодих еритроїдних клітин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіпоксія, гемоліз, кисле середовище, еритроцитарні мембрани.

ВСТУП. Дослідженням реакції організму на зниження pO_2 в атмосферному повітрі й стану гіпоксії, який внаслідок цього розвивається в тканинах, присвячена значна кількість експериментальних робіт [5, 7, 10, 13, 20]. З них відомо, що в молекулярних механізмах адаптації до умов гіпоксії важлива роль належить змінам метаболізму в еритроцитах – клітинах, які виконують функцію забезпечення тканин киснем [6, 7, 20, 25]. Однак окремі аспекти цієї проблеми все ще залишаються нез'ясованими. Зокрема, недостатньо вивчено зміни функціональних властивостей мембран еритроїдних клітин за умов гострої і тривалої нестачі кисню в повітрі, яке вдихається. Разом із тим, ця проблема є актуальною, оскільки, згідно із сучасними положеннями, зміни структури і функцій мембран є одним із шляхів реалізації патофізіологічної дії гіпоксії [13, 14, 15].

З наявних у літературі даних випливає, що процеси метаболізму в еритроцитах та функціональний стан мембран клітин взаємопов'язані [21, 24]. Так, АТФ бере участь у регуляції активності мембранних аденозинтрифосфатаз [22, 26], 2,3-дифосфогліцерат (2,3-DPG) – специфічний продукт гліколізу – здатний зв'язуватись із мембранними білками, регулюючи таким чином їх конформаційний стан і стабільність [16, 21, 23, 24, 27]. Метою даної роботи було дослідити вплив гострої і тривалої нестачі кисню на показники функціонального стану плазматичних мембран еритроцитів, зокрема активність Na^+ , K^+ -активованої адено-

зинтрифосфатази (Na^+ , K^+ -АТРази) та інтенсивність зв'язування 2,3-дифосфогліцерату з мембранними білками, а також на стійкість еритроцитів до гемолізу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Матеріалом для досліджень були зразки периферичної крові, отримані від трьох груп лабораторних білих щурів-самців масою 180-200 г (контрольної і двох дослідних). Для моделювання гострого гіпоксичного стану тварин 1-ї дослідної групи (Д1) протягом 3 год витримували в барокамері, де за допомогою вакуумної помпи створювали парціальний тиск кисню (pO_2) 32 Торр, що відповідав висоті 9000 м над рівнем моря (н.р.м.). Тварин 2-ї дослідної групи (Д2) впродовж 10 діб (по 3 год щоденно) витримували в барокамері при pO_2 91 Торр (умовна висота – 3500 м н.р.м.) для моделювання стану тривалої гіпоксії.

Щурів забивали шляхом декапітації під легким ефірним наркозом, і отримували кров у тварин групи Д1 безпосередньо після їх перебування в барокамері, а в тварин групи Д2 – на 3, 5, 10 доби після початку піднімання щурів на висоту та на 5 добу після закінчення експерименту.

Виділення та поділ еритроцитів на фракції здійснювали загальноприйнятими методами [8, 9, 12]. Стабільність плазматичних мембран оцінювали за швидкістю їх гемолізу в кислому середовищі методом Гітельсона і Терскова [3]. Вміст зв'язаного з білками мембран 2,3-DPG визначали методом Дайса і Бессмана [18]. Активність Na^+ , K^+ -активованої аденозинтри-

фосфатази мембран еритроцитів визначали за збільшенням вмісту неорганічного фосфору в інкубаційному середовищі при 37 °С і виражали в мкмоль фосфату, відщепленого від АТФ за 1 годину в перерахунку на 1 мг білка згідно з методом [4].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У таблиці 1 представлені результати досліджень вмісту еритроцитів та окремих показників, що характеризують їх функціональну активність у тварин, які перебували під впливом гострої і тривалої нестачі кисню. Вони свідчать про те, що водночас зі збільшенням загальної кількості еритроцитів у щурів, яких піднімали на умовну висоту 3500 м, змінюється функціональна активність досліджуваних клітин. Зокрема, встановлено зменшення об'єму еритроцитів, вмісту зв'язаного з мембранами 2,3-DPG та пригнічення активності Na^+, K^+ -АТФази на 5 і 10 доби експерименту. Такі зміни, зокрема зниження вмісту зв'язаного з мембранами 2,3-DPG та активності Na^+, K^+ -АТФази, виявили також і в еритроцитах тварин, які перебували за умов гострої нестачі кисню на висоті 9000 м н.р.м. (табл. 1).

Як відомо, каталітична активність Na^+, K^+ -АТФази, з одного боку, залежить від енергетичного статусу еритроцита, а з іншого – впливає на інтенсивність енергетичних процесів у клітині, визначаючи не лише інтенсивність транспорту іонів – регуляторів активності внутрішньоклітинних ферментів, але й інші функціональні властивості плазматичних мембран [19, 26]. Водночас на функціональну активність структурних білків мембран еритроцитів, зокрема спектрину, впливає й рівень зв'язування з ними 2,3-DPG [23, 27]. Крім того, ця сполука може бути донором фосфатних залишків при фосфорилуванні функціональних білків мембран [16].

Тому результати щодо змін вказаних показників при зниженні вмісту pO_2 в повітрі, ймовірно, вказують на погіршення функціональних характеристик мембран еритроцитів тварин.

Останнє підтверджується результатами досліджень стійкості до гемолітика мембран еритроцитів щурів, які перебували в умовах гострої та тривалої нестачі кисню в середовищі (рис. 1).

Так, після перебування тварин у барокамері на висоті 9000 м н.р.м. час гемолізу 50 % еритроцитів зменшується на 18,6 % ($p < 0,05$), а час повного гемолізу цих клітин – на 23 % ($p < 0,05$). Такі результати, зокрема вірогідну різницю в часі гемолізу 50 % клітин ($p < 0,05$), отримано при побудові кривих гемолізу еритроцитів щурів, які перебували під впливом нестачі кисню впродовж 5 діб. Відмінність від контрольних значень часу гемолізу 50 % еритроцитів тварин, які перебували в барокамері впродовж 10 днів, не вірогідна, а найближче до контролю розміщується крива гемолізу еритроцитів, отриманих від щурів на 5 день після закінчення експерименту.

Таким чином, умови гіпоксії негативно впливають на стабільність мембран еритроцитів, зумовлюючи їх дестабілізацію і швидке руйнування в кислому середовищі, проте зі збільшенням тривалості адаптаційного періоду в кровотоці тварин з'являються клітини з підвищеною стійкістю до гемолітика. Однак необхідно відмітити, що, хоч частка таких клітин у крові щурів збільшується на 5 і 10 доби експерименту, про що свідчить істотно підвищення відносного вмісту фракції "молодих" еритроцитів (табл. 1), кількість їх, ймовірно, не достатня для нормалізації такого показника, як Na^+, K^+ -АТФаза активність цілої популяції еритроцитів.

Разом із тим, результати аналізу популяційного складу еритроцитів свідчать про те, що в обох варіантах досліджень під впливом зменшення вмісту pO_2 у повітрі, яке вдихається, в крові тварин істотно зменшується відносний вміст старих еритроцитів (табл. 1).

Як відомо, старі еритроцити характеризуються істотними змінами в метаболізмі [1, 9, 11, 17]. Зокрема, в них знижується здатність до транспорту кисню, синтезу макроергічних

Таблиця 1 – Вміст еритроцитів та показники їх функціональної активності в крові щурів, які перебували в умовах зниженого вмісту pO_2 в повітрі ($M \pm m$, $n=5-7$)

Показник	Контроль	Умови гіпоксії				
		$\text{pO}_2=32$ Торр 3 год	$\text{pO}_2=91$ Торр, доби			
			3	5	10	
Кількість еритроцитів, $1 \cdot 10^{12}/\text{л}$	$5,10 \pm 0,24$	$5,72 \pm 0,32$	$5,84 \pm 0,19$	$6,85 \pm 0,43^*$	$7,13 \pm 0,58^*$	
Об'єм еритроцита, мкм^3	$74,27 \pm 1,82$	$73,81 \pm 3,11$	$67,17 \pm 2,30$	$63,14 \pm 1,64^*$	$63,28 \pm 2,52^*$	
Фракції еритроцитів, %	"Молоді"	$18,2 \pm 0,7$	$20,4 \pm 1,5$	$21,3 \pm 2,8$	$22,5 \pm 0,9^{**}$	$22,5 \pm 1,6^*$
	"Зрілі"	$60,8 \pm 2,9$	$63,8 \pm 4,2$	$63,3 \pm 2,4$	$62,8 \pm 1,6$	$61,5 \pm 2,7$
	"Старі"	$21,0 \pm 0,9$	$15,8 \pm 1,0^{**}$	$15,4 \pm 1,2^*$	$14,7 \pm 0,7^{**}$	$16,0 \pm 0,8^{**}$
Активність Na^+, K^+ -АТФази (мкмоль $\text{P}_{\text{неорг}}$ /год на 1 мг білка)	$3,87 \pm 0,30$	$2,25 \pm 0,18^{**}$	$3,10 \pm 0,15$	$2,79 \pm 0,18^*$	$2,51 \pm 0,24^*$	
Вміст зв'язаного з мембраною 2,3-DPG, мкмоль/мл еритроцитів	$1,36 \pm 0,11$	$0,93 \pm 0,08^*$	$1,17 \pm 0,09$	$1,18 \pm 0,12$	$1,00 \pm 0,07^*$	

Примітка. *, ** – вірогідність відмінностей у значеннях показників між контрольною і дослідними групами тварин (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$).

сполук, рецепції біорегуляторів і комплементу. В таких клітинах зростає інтенсивність перекисного окиснення ліпідів, що призводить до деструктивних процесів у плазматичних мембранах і порушення системи транспорту катіонів та амінокислот. У літературі наявні дані щодо змін і в складі структурних білків мембран старих еритроцитів [17]. Ці зміни впливають на киснетранспортну функцію всієї популяції еритроцитів, загалом погіршуючи її. Тому виправданою фізіологічною реакцією організму є видалення старих клітин, які погіршують реологічні властивості крові. Однак необхідно зазначити, що в основі такої реакції лежать зміни біохімічних характеристик еритроцитів, зокрема перебудова окремих ланок метаболізму в цих клітинах [2, 11].

ВИСНОВКИ. У процесі досліджень встановлено, що за умов як гострої, так і тривалої гіпоксії чутливою до порушень ланкою є функціональна активність плазматичних мембран еритроцитів. На це вказує пригнічення Na^+ , K^+ -АТФазної активності та рівня зв'язування з мембранними білками 2,3-дифосфогліцерату. За таких умов стійкість еритроцитів до гемолізу

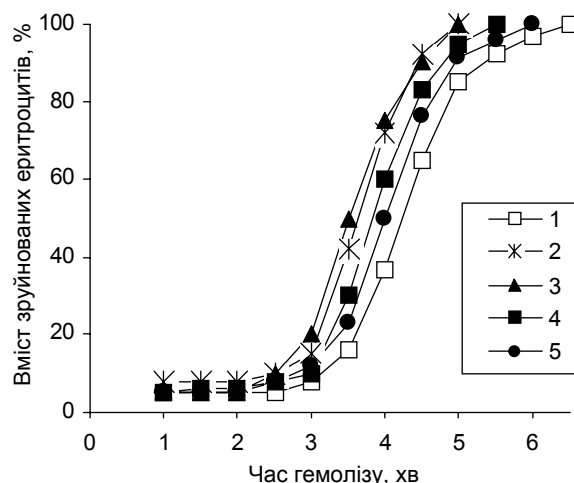


Рис. 1. Криві гемолізу еритроцитів щурів: 1 – контроль; 2 – 3 год в барокамері (умовна висота – 9000 м н.р.м.); 3, 4 – 5 і 10 доби, відповідно, адаптації в барокамері (умовна висота – 3500 м н.р.м.); 5 – 5 доба після закінчення експерименту.

в кислому середовищі зменшується. Разом із тим, адаптаційними реакціями організму на гіпоксію є видалення старих еритроцитів та інтенсифікація процесу надходження в кров молодих еритроїдних клітин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Антоняк Г.Л. Морфологічно-біохімічні аспекти еритропоезу в онтогенезі тварин // Біологія тварин. – 1999. – **1**, № 1. – С. 30-45.
2. Антоняк Г.Л. Особливості гемопоезу у тварин на ранніх стадіях постнатального розвитку. Автореф. дис. ... д-ра біол. наук: Львів, 2002. – 29 с.
3. Гительзон И.И., Терсков И.А. Эритрограммы как метод клинического исследования крови. – Красноярск, 1969. – 247 с.
4. Казенов А.М., Маслова М.Н., Шалабодов А.Д. Механизм активизирующего действия детергентов и хелаторов на Na^+ , K^+ -АТФазу теней безъядерных эритроцитов // Биохимия. – 1986. – **51**, № 2. – С. 224-229.
5. Коробов В.М. Механізми адаптації ссавців до гіпоксії за участю дихальних гемопротеїнів: Автореф. дис. ... д-ра біол. наук. – К., 2003. – 29 с.
6. Панас Н.Є., Антоняк Г.Л., Снітинський В.В. Стан еритропоезу і функціональні властивості гемоглобіну тварин за умов нестачі кисню // Вісник Львівського національного університету. – 2003. – Вип. 34. – С. 57-64.
7. Середенко М.М., Дударев В.П., Лановенко И.И. и др. Механизмы развития и компенсации гемической гипоксии. – К.: Наукова думка, 1987. – 200 с.
8. Сизова И.А., Каменская В.В., Феденков В.И. Безаппаратурный способ фракционирования красных клеток крови в градиенте плотности сахарозы // Изв. Сиб. отд. АН СССР. – 1980. – **3**, № 15. – С. 119-122.
9. Снітинський В.В., Антоняк Г.Л., Бершадський В.І. Активність деяких ферментів гліколізу ерит-

- роцитів поросят у неонатальному періоді // Укр. біохім. журн. – 1994. – **66**, № 5. – С. 31-35.
10. Тимочко М.Ф., Елісеєва О.П., Кобилінська Л.І., Тимочко І.Ф. Метаболічні аспекти формування кисневого гомеостазу в екстремальних станах. – Львів, 1998. – 140 с.
11. Bartosz G. Erythrocyte aging /Advances in Cell Aging and Gerontology. – 1996. – **1**. – P. 63-88.
12. Beutler E., West D., Blume K.-G. The removal of leukocytes and platelets from whole blood // J. Lab. Clin. Med. – 1976. – **88**, № 2. – P. 328-333.
13. Boutilier R.G. Mechanisms of cell survival in hypoxia and hypothermia // J. Exp. Biol. – 2002. – **204**, № 18. – P. 3171-3181.
14. Bunn H.F., Poyton R.O. Oxygen sensing and molecular adaptation to hypoxia // Physiol. Rev. – 1996. – **76**. – P. 839-885.
15. Celedon G., Gonzalez G., Sotomayor C.P., Behn C. Membrane lipid diffusion and band 3 protein changes in human erythrocytes due to acute hypobaric hypoxia // Am. J. Physiol. Cell Physiol. – 1998. – **275**. – P. C1429-C1431.
16. Conway R.G., Tao M. Effect of 2,3-diphosphoglyceric acid on the human erythrocyte membrane phosphorylation system // J. Biol. Chem. – 1981. – **256**, № 22. – P. 11932-11938.
17. Dice J.F. Cellular and molecular mechanism of aging // Physiol. Rev. – 1993. – **73**, № 1. – P. 149-159.
18. Dyce B.J., Bessman S. A rapid nonenzymatic assay for 2,3-DPG in multiple specimens of blood // Arch. Environm. Health. – 1973. – **27**, № 2. – P. 112-115.
19. Jorgensen P.L. Mechanism of the Na^+ K^+ pump/

Protein structure and conformation of the pure Na⁺, K⁺-ATPase // Biochim. Biophys. Acta. – 1982. – **694**. – P. 27-68.

20. Gunga H.C., Fries D., Humpeler E. et al. Austrian Moderate Altitude Study (AMAS 2000) – fluid shifts, erythropoiesis, and angiogenesis in patients with metabolic syndrome at moderate altitude (congruent with 1700 m) // Eur. J. Appl. Physiol. – 2003. – **88**, № 6. – P. 497-505.

21. Yonetani T., Park S., Tsuneshige A. et al. Global allosteric model of hemoglobin. Modulation of O₂ affinity, cooperativity, and Bohr effect by heterotropic allosteric effectors // J. Biol. Chem. – 2002. – **277**, № 37. – P. 34508-34520.

22. Langmann T., Mauere R., Zahn A. et al. Real-time reverse transcription-PCR expression profiling of the complete human ATP-binding cassette transporter superfamily in various tissues // Clin. Chem. – 2003. – **49**, № 2. – P. 230-238.

23. Moriyama R., Lombardo C.R., Workman R.F., Low P.S. Regulation of linkages between the eryth-

rocyte membrane and its skeleton by 2,3-diphosphoglycerate // J. Biol. Chem. – 1993. – **268**, № 15. – P. 10990-10996.

24. Mulquiney P.J., Kuchel P.W. Model of the pH-dependence of the concentrations of complexes involving metabolites, haemoglobin and magnesium ions in the human erythrocyte // Eur. J. Biochem. – 1997. – **245**, № 1. – P. 71-83.

25. Samaja M., Crespi T., Guazzi M., Vandegriff K.D. Oxygen transport in blood at high altitude: role of the hemoglobin-oxygen affinity and impact of the phenomena related to hemoglobin allosterism and red cell function // Eur. J. Appl. Physiol. – 2003. – **90**, № 3-4. – P. 351-359.

26. Staines H.M., Ellory J.C., Kirk K. Perturbation of the pump-leak balance for Na⁺ and K⁺ in malaria-infected erythrocytes // Amer. J. Physiol. Cell. Physiol. – 2001. – **280**, № 6. – P. 1576-1587.

27. Waugh R.E. Effects of 2,3-diphosphoglycerate on the mechanical properties of erythrocyte membrane // Blood. – 1986. – **68**, № 1. – P. 231-238.

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ГИПОКСИИ НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ЖИВОТНЫХ

Н.Е. Панас

ЛЬВОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Изучали влияние острой и длительной нехватки кислорода на стойкость эритроцитов к гемолизу в условиях кислой среды, а также некоторые показатели функционального состояния эритроцитарных мембран лабораторных белых крыс. Установлено, что состояние гипоксии при поднятии на высоту 3500 м н.у.м. ($pO_2=91$ Торр) вызывает угнетение Na⁺,K⁺-АТФазной активности и уменьшение количества связанного с мембранами 2,3-бифосфоглицерата. Похожие изменения в эритроцитах животных происходили из-за острой нехватки кислорода, когда крыс поднимали на относительную высоту 9000 м н.у.м. ($pO_2=32$ Торр), стойкость эритроцитов к гемолизу в кислой среде снижалась. Кроме того, установлено, что в процессе адаптации организма к гипоксии из крови удаляются старые эритроциты и значительно усиливается приток в кровь молодых эритроидных клеток.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипоксия, гемолиз, кислая среда, эритроцитарные мембраны.

THE EFFECTS OF HYPOXIA ON FUNCTIONAL PROPERTIES OF RED CELL MEMBRANES OF ANIMALS

N.Y. Panas

LVIV STATE AGRARIAN UNIVERSITY

Summary

The effects of acute and continuous hypoxia on a resistance of red cells to hemolysis in acid medium and some indices of functional activity of red cell membranes of laboratory white rats were studied. It was established, that hypoxic conditions, which develop in animal organism at a raising on height of 3500 m above sea level ($pO_2=91$ Torr), were characterized by inhibition of Na⁺,K⁺-ATPase activity and a decrease in membrane-bound 2,3-diphosphoglycerate content. The similar changes were observed in red cells of rats kept under conditions of acute hypoxia in a pressure chamber at height of 9000 m above sea level ($pO_2=32$ Torr). These changes were accompanied by a decrease in a resistance of red cells to hemolysis in acid medium. An increase in the contents of young erythroid cells was observed in the blood stream of rats during their adaptation to continuous hypoxia, while a decline in contents of old red cells were established in animal blood under conditions of both the continuous and acute hypoxia.

KEY WORDS: hypoxia, hemolysis, acid medium, erythrocyte membranes.

Отримано 05.09.2005 р.

Адреса для листування: Н.Е. Панас, кафедра екології та біології, Львівський державний аграрний університет, вул. Володи-мира Великого, 1, Дубляни, Жовківський р-н, Львівська обл., 83081, Україна.

ВПЛИВ КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ ХЛОРИДУ КАДМІЮ ТА НІТРИТУ НАТРІЮ НА ПОКАЗНИКИ БІЛКОВОГО ОБМІНУ В КРОВІ ТА ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ, ОПРОМІНЕНИХ НИЗЬКИМИ ДОЗАМИ РАДІАЦІЇ

О.І. Острівка, Я.І. Гонський

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

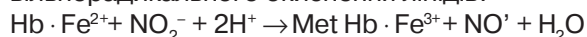
Проведено експериментальні дослідження з вивчення роздільного та поєднаного впливу нітриту натрію і хлориду кадмію на тлі низьких доз рентгенівського опромінення на вміст церулоплазміну, функціональний стан плазматичних мембран та показники окисної модифікації білків. Встановлено, що за дії вказаних токсикантів у печінці щурів посилюються перекисне окиснення білків та деструкція плазматичних мембран, знижується вміст церулоплазміну в плазмі крові і зростає вміст середніх молекул.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: комбінована дія, окисна модифікація білків, середні молекули, нітриту, солі кадмію, низькі дози рентгенівського опромінення.

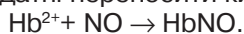
ВСТУП. Хімізація промисловості й сільськогосподарства та широке використання хімії в побуті призвели до зростання хімічного навантаження на біосферу, що викликає нові патології в людини і тварин та зміни типового перебігу ряду захворювань [11, 14].

Одним із пріоритетних напрямків біохімічної токсикології є вивчення особливостей та механізмів комбінованої дії найбільш поширених ксенобіотиків – факторів ризику багатьох екологічнозалежних патологічних станів. До цих факторів слід віднести нітриту та нітрати, вміст яких перевищує в кілька разів допустимі норми у продуктах харчування, солі важких металів, галогенопохідні, радіонукліди [2, 3, 11, 14]. Після аварії на Чорнобильській АЕС у ряді областей України постійно діють низькі дози радіаційного опромінення, які згубно впливають на організм людини і тварин [1, 4, 16].

Згідно з даними літератури, натрію нітрит є класичним метгемоглобіноутворювачем, при його дії на організм розвивається гемічна гіпоксія. Як свідчать отримані результати [11, 17], натрію нітрит у контакті з оксигемоглобіном призводить до утворення вільних радикалів, які пошкоджують біологічні мембрани, мають виражену цитотоксичну дію, викликають процеси вільнорадикального окиснення ліпідів:



Взаємодіючи з відновленим гемоглобіном, оксид азоту утворює стабільні HbNO-комплекси, які не здатні переносити кисень:



© О.І. Острівка, Я.І. Гонський, 2006.

Кадмій визнано одним із найшкідливіших елементів [2, 10, 19, 20, 22, 24] періодичної системи. Органами-мішенями для нього є нирки, печінка, кістки, еритроцити, селезінка, він має велику здатність до акумуляції в клітинах. Потрапляння кадмію в організм тварин і людини супроводжується активацією процесів ліпопероксидації, при цьому відбувається посилене витрачання антиоксидантів у відповідь на утворення вільних радикалів. Кадмій блокує сульфгідрильні групи білків, що вказує на його належність до "тілових отрут" [3, 18, 21, 23].

Науково-практичний інтерес становить дослідження роздільного та поєднаного впливу різних хімічних чинників на організм. Ми поставили собі за мету дослідити роздільний та поєднаний вплив цих токсинів на організм в експерименті. Доцільність дослідження впливу 3-х токсикантів полягає у тому, що в побуті та на виробництві нерідко трапляються випадки одночасної дії вищезгаданих ксенобіотиків, з якими людина стикається в реальному житті.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на білих безпородних лабораторних щурах-самцях масою 150-170 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Токсичне ураження викликали солями кадмію та нітриту натрію після опромінення низькими дозами радіаційного ураження. Хлорид кадмію вводили внутрішньошлунково в дозі 6 мг/кг маси тіла (1/15 LD₅₀), натрію нітрит – у дозі 70 мг/кг (1/3 LD₅₀). Одноразове опромінювання проводили за допомогою рентгенівського апарата РУМ-17 у

дозі 0,5 Гр (напруга – 40 кВ, сила струму – 80 мА, фільтри – 0,5 мм Cu та Zn, шкірнофокус-на відстань – 40 см, потужність дози – 1 Р/с).

Піддослідних тварин поділили на 4 групи: 1-ша – інтактні (контроль); 2-га – уражені нітритом натрію; 3-тя – нітрит натрію та хлорид кадмію; 4-та – комбіноване ураження хлоридом кадмію та нітритом натрію після опромінення низькими дозами радіації. Для дослідження використовували сироватку крові та гомогенат печінки. Декапітацію проводили на 1, 3, та 5-ту доби від моменту інтоксикації під легким ефірним наркозом. Стан антиоксидантної системи оцінювали за активністю церулоплазміну в сироватці крові [6, 13]. Для оцінки ендогенної інтоксикації визначали вміст молекул середньої маси у плазмі крові SM_1 і SM_2 , як описано у роботі [12]. Функціональний стан плазматичних мембран оцінювали за активністю АсАТ і АлАТ [7] у сироватці крові та гомогенаті печінки. Про стан окисної модифікації білків судили за динамікою вмісту ОМБ (альдегідо- та кетоніохідних нейтрального (ОМБ₃₇₀) і основного (ОМБ₄₃₀) характеру) в сироватці крові [8]. Отримані результати піддавали статистичній обробці з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Із наведених у таблиці 1 результатів видно, що за інтоксикації нітритом натрію, хлоридом кадмію на тлі низьких доз радіоактивного опромінення вміст SM_1 і SM_2 у сироватці крові був значно більшим, порівняно з інтактними тваринами протягом усіх днів експерименту. Найвищого рівня вміст SM_1 і SM_2 сягнув на 5-ту добу при

комбінованому ураженні у становив: SM_1 – 167 % і SM_2 – 182 % від контролю.

Поєднане застосування хлориду кадмію та нітриту натрію на фоні рентгенівського опромінення призвело до більшого зростання SM , ніж при введенні лише натрію нітриту чи хлориду кадмію і натрію нітриту ($p < 0,05$) (табл. 1). Отже, ураження тварин нітритом натрію зумовило статистично вірогідне підвищення ендогенної інтоксикації, що проявилось збільшенням SM_1 і SM_2 , які віддзеркалюють стан катаболізму білків.

Враховуючи те, що SM відображають інтенсивність катаболізму та ступінь пошкодження мембран, можна стверджувати, що кадмій та нітрит натрію посилюють катаболічні процеси та мають мембранопшкоджувальну дію, а рентгенівське опромінення потенціює цю дію хлориду кадмію і нітриту натрію на клітинні мембрани [4, 11, 15, 21].

З метою отримання повнішої інформації про стан та функції плазматичних мембран ми вивчали активність цитозольних ферментів АлАТ і АсАТ у сироватці крові та гомогенаті печінки здорових і уражених тварин. Вміст цитозольних ферментів у плазмі крові та позаклітинному просторі тканин перебував на відносно низькому рівні. Але пошкодження плазматичних мембран призводило до виходу ферментів із цитозоля в міжклітинний простір і кров. В уражених тварин активність АсАТ і АлАТ у плазмі крові протягом усіх днів зазнавала однотипних змін, спрямованих у сторону зростання. Найвищі показники активності цих ферментів як при роздільному, так і при поєднаному введенні ксенобіотиків спостерігалися у сироватці

Таблиця 1 – Вплив солей хлориду кадмію та натрію нітриту на фоні рентгенівського опромінення на стан білкового обміну в щурів ($M \pm m$)

Показник	Біологічна рідина	Інтактні, n=6	Уражені натрію нітритом, n=18			Уражені хлоридом кадмію та натрію нітритом, n=18			Уражені хлоридом кадмію та натрію нітритом на фоні рентгенівського опромінення, n=18		
			1 доба	3 доба	5 доба	1 доба	3 доба	5 доба	1 доба	3 доба	5 доба
ЦП, мг·л ⁻¹	Плазма крові	230,1±7,2	207,2±6,2*	197,3±6,0*	203,3±7,1*	195,2±6,4*	177,5±6,2*	192,2±8,2*	158,3±7,3*	142,3±8,2*	130,3±6,9*
SM_1 , ум. од.	Плазма крові	0,286±0,006	0,298±0,004*	0,349±0,005*	0,366±0,005*	0,312±0,007*	0,358±0,006*	0,384±0,008*	0,398±0,005*	0,423±0,003*	0,478±0,006*
SM_2 , ум. од.	Плазма крові	0,052±0,003	0,063±0,005*	0,070±0,005*	0,082±0,006*	0,068±0,004*	0,075±0,006*	0,084±0,003*	0,070±0,004*	0,080±0,005*	0,095±0,005*
АлАТ, ммоль·год ⁻¹ ·л ⁻¹	Плазма крові	0,28±0,04	0,30±0,02*	0,36±0,07*	0,38±0,07*	0,31±0,03*	0,38±0,04*	0,43±0,06*	0,32±0,03*	0,40±0,04*	0,45±0,03*
АлАТ, ммоль·год ⁻¹ ·кг ⁻¹	Гомогенат печінки	1,22±0,04	1,30±0,04*	1,32±0,07*	1,38±0,07*	1,32±0,06*	1,35±0,05*	1,46±0,07*	1,38±0,05*	1,59±0,06*	1,72±0,05*
АсАТ, ммоль·год ⁻¹ ·л ⁻¹	Плазма крові	0,20±0,05	0,24±0,03*	0,26±0,06*	0,29±0,10*	0,23±0,06*	0,26±0,04*	0,30±0,03*	0,25±0,04*	0,30±0,04*	0,32±0,05*
АсАТ, ммоль·год ⁻¹ ·кг ⁻¹	Гомогенат печінки	1,18±0,03	1,23±0,03*	1,25±0,09*	1,40±0,08*	1,26±0,04*	1,37±0,07*	1,49±0,03*	1,39±0,04*	1,50±0,03*	1,55±0,05*
ОМБ ₃₇₀	Плазма крові	0,95±0,01	1,02±0,02*	1,18±0,02*	1,25±0,01*	1,10±0,03*	1,26±0,03*	1,38±0,02*	1,34±0,05*	1,40±0,06*	1,48±0,06*
ОМБ ₄₃₀	Плазма крові	0,61±0,01	0,68±0,02*	0,73±0,02*	0,76±0,01*	0,75±0,04*	0,88±0,03*	0,90±0,03*	0,80±0,05*	0,94±0,06*	0,98±0,07*

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

крові й гомогенаті печінки на 5-й день експерименту від моменту введення отруту. Активність АлАТ у відсотковому співвідношенні перевищувала аналогічний показник АсАТ (відповідно, 160 і 145 % від рівня інтактних тварин у сироватці крові та 149 і 130 % в гомогенаті). Оскільки АлАТ є органоспецифічним ферментом для печінки, то зростання активності АлАТ за умов дії нітриту натрію та хлориду кадмію після опромінення низькими дозами радіації вказує на їх гепатотоксичний вплив.

Певних змін зазнав і основний антиоксидант плазми крові – церулоплазмін. Як при роздільному, так і при комбінованому ураженні достовірно знизився його вміст. Найнижчого рівня, порівняно з контролем, зазнали показники церулоплазміну, досліджені у сироватці крові на 5-ту добу при комбінованому ураженні, що становило 57 % ($p < 0,05$). Враховуючи те, що церулоплазмін синтезується в печінці, то зменшення його вмісту можна вважати наслідком гепатотропної дії ксенобіотиків для цього антиоксиданта.

Виражених змін зазнали також показники ОМБ у тварин як із нітритним, так і з комбінованим токсикозом. Уже на 1-шу добу в усіх трьох експериментальних групах щурів спостерігали зростання рівня альдегідо- і кетонітрогенних нейтрального та основного характеру сироватки крові. Найвищі досліджувані показники мали місце вже на 5-ту добу експерименту. При

комбінованому ураженні на 5-ту добу вміст ОМБ₃₇₀ збільшився на 124 % і ОМБ₄₃₀ – на 120 %. Підвищення активності альдегідо- і кетонітрогенних нейтрального й основного характеру за окремого і комбінованого ураження може бути обумовлено зниженням активності специфічних протеаз [5, 9]. Вміст ОМБ і, очевидно, продуктів ПОЛ призводить до посилення ендogenous токсикозу, що є проявом зростання СМ та активності АлАТ і АсАТ.

Отже, солі кадмію та натрію нітриту на тілі низьких доз рентгенівського опромінення, особливо при їх поєднаній дії, мають виражений негативний вплив на показники білкового обміну та функціональний стан клітинних мембран, що проявляється посиленням катаболізмом білків, зростанням СМ₁ і СМ₂, зменшенням вмісту церулоплазміну, підвищенням проникності плазматичних мембран (зростанням АсАТ і АлАТ) та активації перекисного окиснення білків (ОМБ).

ВИСНОВКИ. 1. Натрію нітрит та солі кадмію проявляють однонаправлену дію, яка супроводжується підвищенням проникності плазматичних мембран гепатоцитів.

2. Усі токсиканти мають пригнічувальний вплив на активність антиоксидантної та мембраностабілізуючої систем організму.

3. При поєднаному впливі ксенобіотиків їх негативні дії сумуються.

ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А., Олійник С.А., Хмелевський Ю.В. Стан антиоксидантної системи за дії іонізуючої радіації у низьких дозах та низької інтенсивності // Укр. біохім. журн. – 1994. – **66**, № 4. – С. 3-29.
2. Новикова Ю.В., Окладников Н.И., Сайфутдинов М.М., Андреев И.А. Влияние нитритов и нитратов на состояние здоровья населения // Гиг. и санит. – 1985. – № 32. – С. 58-62.
3. Губский Ю.И., Долго-Сабуров В.Б., Храпак В.В. Химические катастрофы и экология. – К.: Здоров'я, 1993. – 224 с.
4. 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.
5. Кірпенко Т.О., Остапченко Л.І. Вплив іонізуючого опромінення на системи білкового фосфорилування у клітині // Укр. радіол. журнал. – 1993. – № 7. – С. 184-187.
6. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – 311 с.
7. Кметь Т.І., Власик Л.І. Особливості впливу нітрату натрію та хлориду кадмію на систему гемоглобіну та стан окиснювальної модифікації білків статевозрілих щурів з різною швидкістю ацетилю-

вання // Тези доп. II з'їзду токсикологів України. – К., 2004. – С. 26-27.

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

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

10. Мецишен І.Ф. Метод визначення окиснювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // Бук. мед. вісник. – 1998. – **2**, № 1. – С. 156-158.

11. Мецишен І.Ф., Польовий В.П. Механізм окиснювальної модифікації білків // Бук. мед. вісник. – 1999. – **3**, № 1. – С. 196-205.

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

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

14. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. – 168 с.

15. Сердюк А.М. Навколишнє середовище і

здоров'я населення України // Довкілля і здоров'я. – 1998. – № 4. – С. 2-6.

16. Фіра Л.С., Гонський Я.І., Корда М.М. Порухення метаболічних процесів у тварин з експериментальним токсикозом на фоні рентгенівського опромінення // Здобутки клінічної та експериментальної медицини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. – С. 16-19.

17. Шугалей І.В., Целинский І.В., Кашпарова В.П. Влияние нитроксильных радикалов и нитрита натрия на содержание метгемоглобина в крови и активность ферментов антиоксидантной защиты эритроцитов // Укр. биохим. журн. – 1992. – **64**, № 6. – С. 87-90.

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

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

20. Gill K., Sandrir R., Sharma G. at al. Perturbations in lipid peroxidation and antioxidant enzymes

on cadmium exposure to growing rats // J. Trace Elem. Exp. Med. – 1990. – **3**, № 2. – P. 79-89.

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

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

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

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

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

ВЛИЯНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ХЛОРИДА КАДМИЯ И НИТРИТА НАТРИЯ НА ПОКАЗАТЕЛИ БЕЛКОВОГО ОБМЕНА В КРОВИ И ПЕЧЕНИ КРЫС, ОБЛУЧЕННЫХ НИЗКИМИ ДОЗАМИ РАДИАЦИИ

О.И. Остривка, Я.И. Гонский

ТЕРНОПОЛЬСЬКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Проведено експериментальні дослідження по изучению отдельного и совместного влияния нитрита натрия и хлорида кадмия на фоне низких доз рентгеновского облучения на содержание церулоплазмينا, функциональное состояние плазматических мембран и показатели окисной модификации белков. Установлено, что при действии указанных токсикантов в печени крыс усиливаются перекисное окисление белков и деструкция плазматических мембран, снижается содержание церулоплазмينا в плазме крови и возрастает содержание средних молекул.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: комбинированное действие, окисная модификация белков, средние молекулы, нитриты, соли кадмия, низкие дозы рентгеновского облучения.

EFFECT OF COMBINED ACTION OF CADMIUM CHLORIDE AND SODIUM NITRITE ON INDICES OF PROTEIN METABOLISM IN BLOOD AND LIVER OF RATS AFTER LOW DOSES OF RADIOACTIVITY

O.I. Ostrivka, Ya.I. Honsky

TERNOPI L STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The experimental investigation for studying of separate and combined effect of sodium nitrite and cadmium chloride after low doses of radioactivity on content of ceruloplasmin, functional state of plasmatic membranes and indices of oxidative modification of proteins has been carried out. It has been determined, that during the action of mentioned toxic substances in liver of rats intensifies protein peroxidation, lowers content of ceruloplasmin in blood serum and becomes stronger destruction of plasmatic membranes, increases content of medium molecules.

KEY WORDS: combined action, oxydative modification of proteins, medium molecules, nitrites, cadmium salts, low doses of radioactivity.

Отримано 07.11.2005 р.

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

ДИНАМІКА ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ЛІПОПРОТЕЇНІВ ПЛАЗМИ КРОВІ ХВОРИХ НА НЕСТАБІЛЬНУ СТЕНОКАРДІЮ ПІД ВПЛИВОМ СИМВАСТАТИНУ

В.Г. Лізогуб, О.О. Артемчук, Т.С. Брюзгіна
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

Проведено оцінку ефективності лікування нестабільної стенокардії шляхом вивчення стану ліпідного обміну та застосування препарату "Симвастатин". Встановлено, що під впливом лікування симвастатином у хворих на нестабільну стенокардію, паралельно з нормалізацією співвідношення насичених та ненасичених жирних кислот ліпопротеїнів низької і високої густини плазми крові, відбувається достовірне зменшення загальної кількості епізодів ішемії міокарда, кількості епізодів безбольової ішемії міокарда.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ліпіди, ліпопротеїни низької, високої густини, нестабільна стенокардія, симвастатин.

ВСТУП. Порушення обміну ліпопротеїнів (ЛП) у хворих на ішемічну хворобу серця (ІХС) стало в останні десятиріччя причиною поглибленого вивчення структури ЛП, їх біосинтезу, метаболічних перетворень тощо. Дослідження ЛП дозволяє отримати дані щодо факторів ризику виникнення серцево-судинних захворювань [7].

Про значення вищих жирних кислот (насичених та полієнових) у ліпопротеїнів низької (ЛПНГ), і високої густини (ЛПВГ) та їх функцію сказано в ряді літературних джерел [2, 3, 9]. На даний момент особливу увагу приділяють конкурентним взаємозв'язком ω -6 та ω -3 поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) і продуктам їх метаболізму, оскільки атеросклероз є перш за все патологією есенціальних ПНЖК [8].

Наприкінці ХХ століття стало очевидним, що одне з найважливіших місць у профілактиці та лікуванні коронарної хвороби серця, і її профілактиці, належить інгібіторам 3-гідрокси-3-метилглутарил коензим А (ГМГ КоА)-редуктази – статинам. Ці твердження базуються як на результатах добре відомих крупних рандомізованих досліджень, в яких профілактичну дію статинів вивчали порівняно з плацебо, так і на даних спостережень за великими групами хворих на коронарну хворобу серця, які, з певних причин, отримували чи не отримували статини [5,6].

© В.Г. Лізогуб, О.О. Артемчук, Т.С. Брюзгіна, 2006.

Актуальною проблемою сучасної кардіології є гострий коронарний синдром та нестабільна стенокардія як одна з його форм. У сучасних стандартах із ведення хворих на нестабільну стенокардію немає рекомендацій щодо обов'язкового застосування статинів. Однак в останні роки стали з'являтися дані, що вказують на покращання прогнозу при приєднанні до базисної терапії статинів з перших днів лікування [10].

У літературі є також деякі відомості щодо паралельного зменшення в крові рівнів холестерину (ХС), ЛПНГ та агрегаційної здатності еритроцитів при лікуванні статинами хворих із гіперхолестеринемією [3]. Однак даних про вплив статинів на жирнокислотний склад ЛП плазми в даній групі хворих не виявлено.

Метою наших досліджень було вивчення жирнокислотного складу ЛПНГ та ЛПВГ плазми крові методом газорідної хроматографії (ГРХ), вивчення динаміки сегмента ST, порушень серцевого ритму методом добового моніторингу електрокардіографії у хворих на нестабільну стенокардію (прогресуючу та вперше виниклу) в перший день лікування та після нього.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 70 хворих віком від 37 до 75 років на нестабільну стенокардію (49 хворих на прогресуючу та 21 хворий на стенокардію, що виникла вперше) і 20 осіб, які становили контрольну групу (прак-

тично здорові особи). Діагноз нестабільної стенокардії встановлювали на основі анамнестичних даних, даних клінічного, біохімічного та електрокардіографічного обстежень, згідно з рекомендаціями Комітету експертів ВООЗ.

Методом випадкової вибірки було сформовано дві групи хворих: 1-ша (основна), складалась із 34 осіб, 2-га (група порівняння) – із 36. Пацієнтам 1-ї групи, починаючи з першого дня розвитку нестабільної стенокардії, крім базисної терапії, призначали симвастатин у дозі 20 мг/добу (одноразово ввечері). Хворі 2-ї групи отримували тільки базисну терапію, яка включала нітрати, блокатори β -адренорецепторів, інгібітори ангіотензинперетворювального ферменту, антикоагулянти.

Досліджувані групи хворих не відрізнялись за віком, частотою реєстрації супровідної артеріальної гіпертензії, наявністю серцевої недостатності. Усі пацієнти перебували під клінічним спостереженням протягом трьох тижнів.

Об'єктом наших досліджень була плазма крові, з якої виділяли ЛПНГ і ЛПВГ у хворих на нестабільну стенокардію за методикою [1]. Забір матеріалу у хворого проводили вранці натще в перший день лікування та після нього.

Підготовку біологічного матеріалу, який отримували в умовах клініки, та газохроматографічний аналіз здійснювали згідно з методикою [4]. У спектрі ЖК ліпідів було ідентифіковано 9 найбільш інформативних ЖК: $C_{14:0}$ міристинова, $C_{16:0}$ пальмітинова, $C_{17:0}$ маргарінова, $C_{18:0}$ стеаринова – насичені, $C_{18:1}$ олеїнова, $C_{18:2}$ лінолева, $C_{18:3}$ ліноленова, $C_{20:3}$ ейкозотрієнова, $C_{20:4}$ арахідонова – ненасичені. Піки ЖК ідентифікували шляхом порівнювання з часом утримання піків стандартних ЖК. Кількісну оцінку ЖК ЛП плазми проводили

методом нормування площин піків метилових похідних ЖК та визначення їх складу у відсотках.

Добове моніторування електрокардіографії здійснювали за допомогою апарата "Delmar". Запис електрокардіограми проводили в модифікованих відведеннях V_1 , V_3 , V_5 . Оцінювали динаміку сегмента ST, порушення серцевого ритму у хворих в перший день лікування та після нього. Результати обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію t-Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати газохроматографічного аналізу жирнокислотного складу ліпідів ЛПНГ і ЛПВГ плазми крові хворих на нестабільну стенокардію до і після лікування статинами наведено в таблицях 1, 2.

Як видно з таблиці 1, до лікування у хворих на нестабільну стенокардію жирнокислотний спектр ліпідів ЛПНГ плазми крові достовірно відрізнявся за співвідношенням насичених та ненасичених ЖК, а також рівнем ПНЖК. Насиченість ліпідного комплексу ЛПНГ обумовлена високим вмістом міристинової ЖК, що може свідчити про порушення гуморальної регуляції в даній групі пацієнтів. Знижений рівень ПНЖК у результаті активації процесу ліпідної пероксидації характеризувався достовірним зменшенням вмісту есенціальних ЖК (лінолевої та арахідонової).

Таким чином, отримані дані свідчать про порушення метаболізму жирних кислот в ЛПНГ плазми крові хворих на нестабільну стенокардію.

Після проведення курсу базисної терапії у хворих 2-ї групи не спостерігалось нормалізації жирнокислотного спектра ЛПНГ плазми крові. Жирнокислотний спектр ЛПНГ достовірно не відрізнявся від такого до лікування, отже, порушення ліпідного метаболізму зберігалися.

Таблиця 1 – Жирнокислотний склад ЛПНГ у хворих на нестабільну стенокардію до та після лікування (%)

Назва ЖК	До лікування	Контроль	Після лікування 1-ша група	Після лікування 2-га група
$C_{14:0}$	30,5±1,0*	5,7±0,6	12,5±1,0*	37,4±1,6*
$C_{16:0}$	34,0±1,9	32,1±0,4	24,8±1,5	29,6±1,4
$C_{17:0}$	1,0±0,1	–	2,1±0,3	1,5±0,2*
$C_{18:0}$	6,1±0,6*	10,5±0,1	6,6±0,7	6,2±0,6*
$C_{18:1}$	12,6±0,9	12,9±0,6	19,8±1,0	10,4±0,5
$C_{18:2}$	11,3±1,5*	31,0±0,3	20,4±0,8*	9,8±0,5*
$C_{18:3}$	1,3±0,3*	0,4±0,04	1,3±0,3	0,9±0,09*
$C_{20:3}$	0,6±0,05	0,4±0,06	0,9±0,05	0,9±0,08*
$C_{20:4}$	2,6±0,3*	7,0±0,6	11,6±1,0*	3,3±0,5*
Сума нас. ЖК	71,6±2,1*	48,3±0,3	46,0±2,0	74,7±1,4*
Сума ненас. ЖК	28,4±2,1*	51,7±0,3	54,0±2,0	25,3±1,4*
Сума ПНЖК	15,8±2,2*	38,8±0,9	24,2±1,8*	14,9±1,3*

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

Таблиця 2 – Жирнокислотний склад ЛПВГ у хворих на нестабільну стенокардію до та після лікування (%)

Назва ЖК	До лікування	Контроль	Після лікування 1-ша група	Після лікування 2-га група
C14:0	30,3±1,6*	3,3±0,5	24,8±2,5*	36,3±1,7*
C16:0	27,3±2,0*	42,0±1,2	28,2±1,5*	26,7±1,2*
C17:0	2,7±0,3*	–	1,9±0,3*	2,2±0,3*
C18:0	5,9±0,4*	14,6±1,2	4,6±0,5*	5,6±0,6*
C18:1	14,6±1,0	15,1±0,1	20,9±0,9*	11,2±1,2*
C18:2	14,9±1,2*	21,4±0,7	15,1±1,0*	11,6±0,7*
C18:3	0,4±0,02	0,5±0,06	0,7±0,05	0,4±0,07
C20:3	0,9±0,08*	0,5±0,06	0,7±0,04	0,7±0,03*
C20:4	3,0±0,5	2,6±0,3	3,2±0,3	2,6±0,3
Сума нас. ЖК	66,2±2,0*	59,9±1,0	59,5±2,0	70,8±1,6*
Сума ненас. ЖК	33,8±2,0*	40,1±1,0	40,6±2,0	29,2±1,6*
Сума ПНЖК	19,2±1,8*	25,0±0,9	19,7±1,6*	18,0±1,4*

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

Після проведення курсу базисної терапії в поєднанні з призначенням симвастатину у хворих 1-ї групи чітко простежувалася тенденція до нормалізації жирнокислотного спектра ЛПНГ плазми крові. Достовірні зміни відбулись за такими показниками: рівень міристинової кислоти знижувався у 2,4 раза, лінолевої – підвищувався в 1,8 раза, арахідонової – зростав у 4,5 раза. У цілому це призвело до нормалізації співвідношення насичених та ненасичених ЖК.

З таблиці 2 видно, що ліпідні показники ЛПВГ плазми крові хворих на нестабільну стенокардію до лікування достовірно відрізнялися від контрольної групи вмістом міристинової, пальмітинової, стеаринової, лінолевої, дигомо-γ-ліноленової ЖК.

До лікування у хворих на нестабільну стенокардію жирнокислотний спектр ЛПВГ плазми крові достовірно відрізнявся за співвідношенням насичених та ненасичених ЖК, а також рівнем ПНЖК. Насиченість ліпідного комплексу ЛПВГ (як і ЛПНГ до лікування) була обумовлена високим вмістом міристинової ЖК. Однак, на відміну від жирнокислотного спектра ЛПНГ до лікування, рівень пальмітинової кислоти, порівняно з контролем, був знижений. Відомо, що пальмітинова кислота перетворюється на міристинову шляхом β-окиснення. Тому, можливо, підвищений вміст міристинової кислоти в структурі ЛПНГ свідчить про звільнення ліпідної часточки від переважанню пальмітиновою кислотою. Достовірне зниження рівнів суми ненасичених ЖК, ПНЖК (за рахунок лінолевої ЖК) вказує на зміни ліпідного метаболізму в результаті активації ліпідної пероксидації.

У ліпідному комплексі ЛПВГ плазми крові у хворих на нестабільну стенокардію після проведення курсу базисної терапії, як і у випадку з

жирнокислотним спектром ЛПНГ, достовірних змін не спостерігалось.

Після проведення курсу базисної терапії в поєднанні з призначенням симвастатину у хворих 1-ї групи визначалася тенденція до нормалізації жирнокислотного спектра ЛПВГ плазми крові. Рівень міристинової кислоти достовірно знизився в 1,2 раза, олеїнової – підвищився в 1,4 раза, ліноленової – зріс в 1,7 раза, що в цілому призвело до нормалізації співвідношення насичених та ненасичених ЖК.

Клінічно у хворих як 1-ї, так і 2-ї груп після проведеного лікування визначалася позитивна динаміка: зменшилися частота та тривалість стенокардитичних епізодів, інтенсивність болювого синдрому, частота та тривалість епізодів ішемії, потреба в нітратах короткої дії, збільшилась фізична активність пацієнтів. Однак при порівняльному аналізі показників добового моніторування електрокардіографії у хворих 1-ї та 2-ї груп після лікування виявлено достовірну різницю. Так, загальна кількість епізодів ішемії міокарда за добу в хворих 1-ї групи зменшилася на (68,2±3,1) %, що є достовірно ($p < 0,05$) більшим за такий показник для 2-ї групи ((52,89±2,1) %). Кількість епізодів безболювої ішемії міокарда в хворих першої групи достовірно зменшувалася на (74,8±3,8) %. Порівняно з такими даними для 2-ї групи ((58,1±2,7) %) було визначено достовірну різницю ($p < 0,05$).

ВИСНОВОК. Під впливом лікування симвастатином у хворих на нестабільну стенокардію, паралельно з нормалізацією співвідношення насичених та ненасичених ЖК ЛПНГ і ЛПВГ плазми крові, відбувається достовірне зменшення загальної кількості випадків ішемії міокарда, кількості випадків безболювої ішемії міокарда.

ЛІТЕРАТУРА

1. Брюзгіна Т.С., Парпалей Є.І., Черенко Т.М. та ін. др. Спосіб оцінки порушень ліпідного обміну. Інформаційний лист. – 1999. – №69. – 2с.
2. Бугаєнко В.В. Порушення ліпідного складу та частота визначення епізодів ішемії міокарда у хворих на ішемічну хворобу серця зі стабільною стенокардією та без стенокардії з безболівою ішемією міокарда // Укр. мед. часопис. – 2005. – № 1-2. – С. 34-40.
3. Ганелина І.Е., Денисенко А.Д., Катюхин Л.Н. и др. Липиды плазмы крови и реологические свойства эритроцитов у больных со стабильной стенокардией // Кардиология. – 2000. – № 8. – С. 62-63.
4. Гичка С.Г., Брюзгіна Т.С., Вретик Г.М., Рева С.Н. Газохроматографический метод определения липидных показателей крови при ишемической болезни сердца // Укр. кард. журн. – 1998. – № 7-8. – С. 50-52.
5. Ляпков Б.Г., Мартынова Е.А., Воинов Д.И. и др. Триглицериды плазмы крови при алиментарном ожирении // Сов. мед. – 1991. – № 4. – С. 68-70.
6. Спасокукоцкий А.Л. Ведення пацієнтів з гіперхолестеринемією // Укр. мед. часопис. – 2005. – № 1-2. – С. 5-26.
7. Творогова М.Г., Титов В.Н. Аполипротеины крови, диагностическое значение и методы определения // Клин. лаб. диагностика. – 1993. – № 2. – С. 4-9.
8. Титов В.Н. Раздельный транспорт липопротеинами насыщенных и по-лиеновых жирных кислот // Усп. совр.биологии. – 1997. – 113, вып. 2. – С. 240-255.
9. Титов В.Н., Лисицын Д.М., Творогова М.Г. и др. Определение двойных связей в липидах сыворотки крови: метод титрования озоном, патофизиология и диагностическое значение // Клин. лаб. диагностика. – 2001. – № 7. – С. 3-9.
10. Dramatic benefits of early statin therapy and revascularization in MI patients. Report from 22 Annual Congress of the European Society of Cardiology // Amsterdam. Brit. J. Cardiol. – 2000. – № 7 (a). – P. 521-522.

ДИНАМИКА ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ЛИПОПРОТЕИНОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ С НЕСТАБИЛЬНОЙ СТЕНОКАРДИЕЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ СИМВАСТАТИНА

В.Г. Лизогуб, О.А. Артемчук, Т.С. Брюзгина
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА

Резюме

Проведена оцінка ефективності лікування нестабільної стенокардії шляхом вивчення стану ліпідного обміну і застосування препарату "Симвастатин". Установлено, що під впливом лікування симвастатином у хворих з нестабільною стенокардією, паралельно з нормалізацією співвідношення насичених і ненасичених жирних кислот ліпопротеїнів низької і високої щільності плазми крові, відбувається достовірне зменшення загальної кількості епізодів ішемії міокарда, кількості епізодів безболівої ішемії міокарда.

КЛЮЧЕВІ СЛОВА: ліпиди, ліпопротеїни низької, високої щільності, нестабільна стенокардія, симвастатин.

DYNAMICS OF FATTY-ACID COMPOSITION OF BLOOD PLASMA LIPOPROTEINS OF THE PATIENS WITH INSTABLE ANGINA UNDER INFLUENCE OF SIMVASTATIN TREATMENT

V.G. Lizogub, O.O. Artemchuk, T.S. Bryuzgina
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLET'S

Summary

Estimation of effectiveness of instable angina treatment by means of studying the state of lipid exchange and use of simvastatin preparation has been realized. It was determined that under the influence of simvastatin treatment of the patients with instable angina, simultaneously with correlation normalization of saturated and unsaturated fatty-acid low- and high-density blood plasma lipoproteins, reliable decreasing of a general quantity of myocardial ischemia and painless myocardial ischemia episodes occurs.

KEY WORDS: lipids, low-density and high- lipoproteins, instable angina, simvastatin.

Отримано 30.09.2005 р.

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

ВИВЧЕННЯ СУБМОЛЕКУЛЯРНИХ ТА КВАНТОВО-ХІМІЧНИХ МЕХАНІЗМІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ ДІЇ ПРИРОДНИХ ТА СИНТЕТИЧНИХ ФЕНОЛІВ.

I. ЕНЕРГІЇ ГРАНИЧНИХ МОЛЕКУЛЯРНИХ ОРБИТАЛЕЙ ТА ПОТЕНЦІАЛИ ІОНІЗАЦІЇ

Ю.І. Губський, О.В. Афанасенко

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

У статті наведено дані кореляцій між антиоксидантною активністю, антирадикальною активністю одно- та двоядерних фенолів і їх електронодонорними властивостями, що кількісно проявляються зменшенням енергії вищої заповненої молекулярної орбіталі й потенціалу іонізації.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: феноли, α -токоферол, іонол, енергії молекулярних орбіталей, антиоксидантні властивості.

ВСТУП. Уявлення про можливість розвитку в біологічних системах вільнорадикальних окиснювальних реакцій вперше сформульовано в 60-х роках ХХ століття на підставі детально розробленої на той час теорії рідкофазового окиснення вуглеводнів [11]. Пізніше можливість гомолітичної трансформації біомолекул інших класів як механізму хімічної модифікації клітинних структур було постульовано для амінокислотних радикалів білків і пептидів, а також азотистих основ ДНК [1, 2, 5]. Особливого значення проблема накопичення та усунення (scavenging) надлишкової кількості хімічно активних радикалів набула у фармакології та токсикології, де ініціювання вільнорадикального окиснення як ксенобіотиків, так і молекулярних компонентів біоструктур розглядається як одна з ключових подій у механізмах токсичного пошкодження клітини при дії ФАС різної хімічної природи [3, 4].

Найпоширеніше фармакологічне застосування знайшли речовини антиоксидантної дії, що за хімічною природою є фенольними сполуками природного (α -токоферол) та синтетичного (іонол) походження. Разом із тим, слід визнати, що, незважаючи на формально достатньо широке висвітлення проблеми антиоксидантів (переважно фенольних сполук) у біомедичній літературі, дотепер відсутнє чітке уявлення про субмолекулярні механізми їх здатності до взаємодії з вільними радикалами

та/або органічними пероксидами у складних біологічних системах. У зв'язку з цим, багато сполук, фармакологічні властивості яких як антиоксидантів (АО) були постульовані на підставі модельних дослідів *in vitro*, не здійснюють бажаних антиоксидантних та цитопротекторних ефектів при їх введенні у вищий організм. Більше того, висловлюються припущення про те, що в основі багатьох біологічних ефектів природних антиоксидантів, зокрема α -токоферолу, лежать принципово інші, відмінні від зв'язування вільних радикалів, біохімічні та клітинні механізми [12].

У зв'язку з вищенаведеним, більш глибоке вивчення субмолекулярних механізмів дії фенольних АО, яке побудовано на використанні квантово-хімічних розрахунків енергетичних та структурних параметрів молекул АО даного класу, вважається в даний час обґрунтованим та необхідним, що і стало завданням даної роботи.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Як модельні фенольні сполуки було використано α -токоферол, іонол, а також групу одно- та двоядерних заміщених фенолів, у тому числі гідроксинафталіни α -нафтол, β -нафтол, 1,5-діоксинафталін. Антирадикальні активності (АРА) сполук досліджували в тесті із стабільним радикалом ДФПГ. Оцінювали зменшення відносної оптичної щільності його спиртового розчину ($C=10^{-4}M$) у присутності досліджуваних

фенолів ($C=10^{-4}$ M) при довжині хвилі 520 нм [6]. Антиоксидантні активності (АОА) досліджуваних фенолів оцінювались за допомогою описаних раніше методів [9]. Конкретні методичні підходи до оцінки АОА та АРА досліджуваних речовин наведено в примітках до відповідних таблиць та рисунків.

Значення енергій вищої заповненої та нижчої незаповненої молекулярних орбіталей (ВЗМО та ННМО), величини енергетичної щільності ΔE (різниця між значеннями енергій ВЗМО та ННМО) і потенціалу іонізації (ПІ) досліджуваних фенолів розраховували за допомогою комп'ютерної програми MOPAC2000, Version 1.11. з використанням гамільтоніанів PM3 та AM1 [7].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Уявлення про те, що значення енергій т.з. граничних, тобто ВЗМО і ННМО, молекулярних орбіталей можуть визначати здатність молекул виступати в ролі донорів або, відповідно, акцепторів електронів у біохімічних реакціях, було розвинуто ще в класичних роботах А. Szent-Gyorgyi [13] та А. Pullman, В. Pullman [10]. Разом із тим, можливості сучасних комп'ютерних програм для розрахунків енергетичних та структурних параметрів молекул, які базуються на застосуванні напівемпіричних та емпіричних методів квантової механіки як основи для прогнозування АРА та АОА фенольних ФАС, раніше повною мірою не використовували.

У таблиці 1 наведено значення АРА й АОА, величин енергій ВЗМО, ННМО та ПІ основного природного фенольного антиоксиданта α -токоферолу й одного з найбільш активних синтетичних антиоксидантів іонолу (2,6-дитребутилфенолу).

Дані, наведені в таблиці 1, свідчать про те, що в модельних системах *in vitro*, які були використані в нашій роботі, фенольні сполуки біомолекула вітамінної дії α -токоферол та синтетичний лікарський засіб іонол виявляли потужні антирадикальні та антиоксидантні властивості. Зокрема, в тесті із стабільним радикалом ДФПГ АРА α -токоферолу перевищувала таку іонолу в $1,7 \cdot 10^3$ разів, тобто більше ніж на три порядки. Подібні ж взаємозв'язки спостерігалися в досліді з визначенням АО-властивостей α -токоферолу та іонолу за ступенем гальмування аскорбатіндукованого ліпоперекиснення в мікросомах печінки. Важливо відмітити, що при цьому α -токоферол характеризується більш високим, порівняно з іонолом (за енергетичною шкалою), значенням ВЗМО та, відповідно, нижчою величиною ПІ.

З метою детальнішого з'ясування енергетичних властивостей фенольних сполук, що є визначальними для проявів їх АРА та АОА, було проведено вивчення взаємозв'язків між енергіями граничних молекулярних орбіталей (МО), ПІ в групі одно- та двоядерних фенолів та їх властивостями як АО.

У цьому відношенні цікавим було порівняння вказаних квантово-механічних та біохімічних характеристик гідроксинафталінів. Добре відомо, що в молекулі нафталіну, на відміну від бензолу, вуглецеві атоми є нерівнозначними. Атоми вуглецю в положеннях 1,4,5,8 відрізняються від вуглецевих атомів у положеннях 2,3,6,7. Внаслідок нерівнозначності положень однозаміщені нафталіни існують у вигляді двох ізомерів, що позначаються як α - та β -нафтоли (1-гідроксинафталін та 2-гідроксинафталін) і суттєво відрізняються за своїми фізичними та хімічними характеристиками, зокрема саме 2-

Таблиця 1 – Значення АРА й АОА та енергій граничних молекулярних орбіталей α -токоферолу та іонолу (гамільтоніан PM3)

ФАС	АРА та АОА		Енергії граничних орбіталей, eV		
	AP _{ДФПГ}	AЗП _{MDA}	ВЗМО	ННМО	ПІ
α -Токоферол	$480 \cdot 10^3$	0,030	-8,374	0,262	8,374
Іонол	278	0,100	-8,700	0,391	8,700

Примітка. АРА оцінювали за швидкістю взаємодії ФАС із стабільним радикалом (ДФПГ, k_2 , $M^{-1} \cdot хв^{-1}$), АОА – за ступенем інгібування аскорбатзалежного ліпоперекиснення (АЗП) в мікросомах печінки (pI_{50} , $M \cdot 10^{-4}$).

Таблиця 2 – Величини антиоксидантних активностей та енергій граничних МО гідроксинафталінів (гамільтоніан PM3)

Фізіологічно активні сполуки	АОА, ум. од.	Енергії граничних орбіталей, eV			
		ВЗМО	ННМО	ПІ	ДЕ
β -Нафтол	18	-8,654	-0,444	8,654	+8,210
α -Нафтол	154	-8,530	-0,374	8,530	+8,156
1,5-Дигідроксинафталін	204	-8,449	-0,546	8,449	+7,903

Примітка. Значення АОА оцінювали за ступенем гальмування окиснення каротину в інертному розчиннику [8].

Таблиця 3 – Величини АОА та енергії граничних МО одно- і двоядерних заміщених фенолів (гамільтоніан РМЗ)

Фенольна сполука	АОА		Енергії граничних МО, eV			
	K ₁ , л/моль·с	lg K ₁	ВЗМО	ННМО	ІП	ДЕ
м-Нітрофенол	0,017·10 ⁴	2,230	-9,989	-1,187	9,989	+8,802
Фенол	0,30·10 ⁴	3,478	-9,175	0,291	9,175	+9,466
2,6-ДиТБФ	0,95·10 ⁴	3,978	-8,885	0,361	8,885	+9,246
Іонол	2,5·10 ⁴	4,398	-8,700	0,391	8,700	+9,091
β-Нафтол	9,0·10 ⁴	4,954	-8,651	-0,444	8,651	+8,207
α-Нафтол	4,4·10 ⁵	5,643	-8,530	-0,374	8,530	+8,156

Примітка. АОА фенолів оцінювали хемілюмінесцентним методом за ступенем гальмування швидкості окиснення етилбензолу [11].

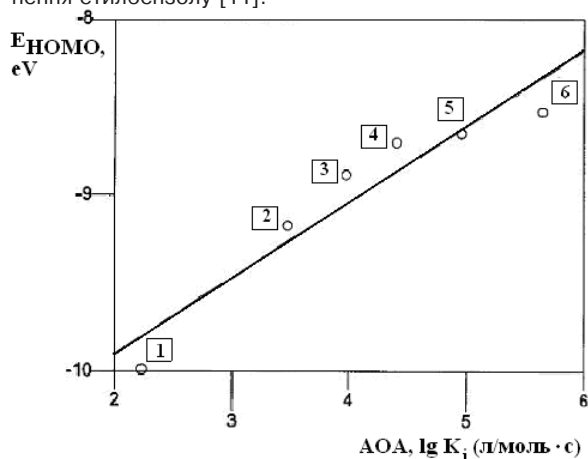


Рис. 1. Позитивна кореляція між значеннями АОА та енергією ВЗМО (НОМО – High Occupied Molecular Orbital) в об'єднаній групі одно- і двоядерних заміщених фенолів:

1 – м-нітрофенол; 2 – фенол; 3 – 2,6-дитретбутилфенол; 4 – 2,6-дитрет-бутил-4-метилфенол (іонол); 5 – β-нафтол; 6 – α-нафтол.

гідроксинафталін застосовують у промисловості як АО.

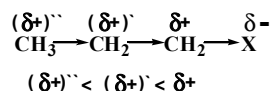
Величини АОА та значення енергій граничних МО двох одноатомних гідроксинафтолів (α- та β-ізомерів) та 1,5-дигідроксинафталіну представлено в таблиці 2.

Як свідчать дані, наведені в таблиці 2, при порівнянні ізомерних гідроксинафталінів – α- та β-нафтолу, що розрізняються лише положенням ОН-групи в ароматичному кільці, в останньої сполуки спостерігаються як значно більша АОА, так і вища енергія ВЗМО. Крім того, відмічається закономірне зростання величини енергії ВЗМО при переході від майже неактивного в тесті АОА β-нафтолу до високоактивних α-нафтолу та 1,5-дигідроксинафталіну. Для підтвердження цього положення було проведено кореляційний аналіз, що встановив наявність високої позитивної кореляції

($r=0,9989$; $p=0,03039$) між АОА гідроксинафталінів та відповідними значеннями ВЗМО.

Кореляційний аналіз взаємозв'язків між АОА та енергією ВЗМО в об'єднаній групі одно- та двоядерних заміщених фенолів (табл. 3, рис. 1) також встановив наявність високої позитивної кореляції між величинами зазначених параметрів ($r=0,9513$; $p=0,003$).

Аналіз молекулярної структури фенольних сполук вказує на те, що ступінь прояву антиоксидантних ефектів у одноатомних фенолів зростає з появою у бензольному кільці в ролі замісників вуглеводневих радикалів з позитивним індуктивним ефектом. Такий +I-ефект зумовлюють, зокрема, алкільні радикали, що спричиняють зсув електронів уздовж вуглецевого ланцюга та поляризацію молекули:



Відповідним чином, спостерігається зростання АОА в ряду одноатомних фенолів від фенолу до 2,6-дитребутилфенолу (іонолу). Введення в ароматичну структуру нітрогрупи з потужними електроноакцепторними властивостями практично позбавляє фенольну сполуку АО-ефекту.

ВИСНОВОК. Як свідчать результати досліджень, наведені в роботі, в класах природних і синтетичних одно- та двоядерних фенолів сполуки з більш високими АРА та АОА характеризуються вищими значеннями енергії ВЗМО та, відповідно, нижчими значеннями ΔE і потенціалу іонізації, що свідчить про переважання у цих речовин електронодонорних властивостей. Найбільш виражені електронодонорні властивості притаманні природному антиоксиданту α-токоферолу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Губський Ю.І. Вільнорадикальні реакції у ядерному хроматині // Журн. АМН України. – 1995. – 1, № 2. – С. 216-229.

2. Губський Ю.І. ДНК ядерного хроматину: вільнорадикальні механізми хімічного пошкодження // Мед. хімія. – 1999. – 1. – С. 7-14.

3. Губський Ю.І. Молекулярні аспекти хімічної екології: вільнорадикальні механізми токсичної загибелі клітини // Проблеми екології та медицини. – 1997. – 1, № 1-2. – С. 6-9.

4. Губський Ю.І. Токсическая гибель клетки: свободнорадикальное повреждение ДНК и апоптоз // Лікування та діагностика. – 2001. – № 4. – С. 8-13.

5. Губський Ю.І., Левицький Е.Л. Механізми перекисного окислення ліпидів фракцій хроматина печени крыс // Биополимеры и клетка. – 1993. – 9, № 5. – С. 34-43.

6. Губський Ю.І., Горюшко Г.Г., Бобкова Л.С., Левицький Е.Л. Вивчення взаємозв'язків між антиоксидантними та квантово-механічними характеристиками похідних піридинкарбонових кислот. // Вісник фармації. 2003. – № 1 (33). – С. 11-15.

7. Драго Р. Физические методы в химии. – М.: Мир, 1981. – Т. 1. – 422 с.

8. Дячина Е.Г. Квантово-механические исследо-

вания антиокислительной активности ряда фенольных соединений // Биофизика. – 1975. 20, вып. 3. – С. 403-405.

9. Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічно активних сполук при ініціюванні вільнорадикальних процесів у дослідах *in vitro*. // Метод. рекомендації. Державний фармакологічний центр МОЗ України. – К., 2002. – 26 с.

10. Пюльман Б., Пюльман А. Квантовая биохимия. – М.: Мир, 1965. – 480 с.

11. Эмануэль Н.М., Денисов Е.Т., Майзус З.К. Цепные реакции окисления углеводов в жидкой фазе. – М.: Наука, 1965. – 375 с.

12. Koltover V.K. Antioxidants: trapping free radicals or modulating system reliability? // Проблемы старения и долголетия. – 2005. – Т. 14. Приложение. – С. 28.

13. Szent-Gyorgyi A. Bioelectronics. A study in cellular regulation, defense and cancer. – New York, London: Academic Press, 1968.

ИЗУЧЕНИЕ СУБМОЛЕКУЛЯРНЫХ И КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ АНТИОКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРИРОДНЫХ И СИНТЕТИЧЕСКИХ ФЕНОЛОВ.

1. ЭНЕРГИИ ГРАНИЧНЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ОРБИТАЛЕЙ И ПОТЕНЦИАЛЫ ИОНИЗАЦИИ

Ю.И. Губский, О.В. Афанасенко

НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. О.О. БОГОМОЛЬЦА

Резюме

В статье приведены данные о наличии корреляций между антиоксидантной активностью, антирадикальной активностью одно- и двуядерных фенолов и их электронодонорными свойствами, которые количественно выражаются уменьшением энергии высшей заполненной молекулярной орбитали и потенциала ионизации.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фенолы, α -токоферол, ионол, энергии молекулярных орбиталей, антиоксидантные свойства.

STUDY OF SUBMOLECULAR AND QUANTUM-CHEMICAL MECHANISMS OF NATURAL AND SYNTHETIC PHENOLS ANTIOXIDANT ACTION. I. VERGE MOLECULAR ORBITALS ENERGIES AND IONIZATION POTENTIALS

Yu.I. Hubskiy, O.V. Afanasenko

NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLETS

Summary

The article contains dates about presence of correlations between antioxidanted activity, antiradical activity of single and binuclear phenols and their electron-donated properties which are quantitatively expressed by decrease of high occupied molecular orbital and ionization potential energy.

KEY WORDS: phenols, α -tocopherols, ionole, molecular orbitals energy, antioxidant properties.

Отримано 15.02.2006 р.

Адреса для листування: О.В. Афанасенко, Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, вул. Пушкінська, 22, Київ, 01000, Україна.

МІНЛИВІСТЬ КОМПОНЕНТНОГО СКЛАДУ ЕФІРНОЇ ОЛІЇ У ЛАВАНДИНУ В УМОВАХ ХЕРСОНСЬКОЇ ОБЛАСТІ

Л.В. Свиденко¹, В.Д. Работягов²

ДОСЛІДНЕ ГОСПОДАРСТВО "НОВОКАХОВСЬКЕ" НІКІТСЬКОГО БОТАНІЧНОГО САДУ –
НАЦІОНАЛЬНОГО НАУКОВОГО ЦЕНТРУ¹
НІКІТСЬКИЙ БОТАНІЧНИЙ САД – НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР²

В ефірній олії лавандину ідентифіковано 29 компонентів. Основними є ліналоол – до 47 %, ліналілацетат – до 28 %, борнеол – до 6 %, камфора – до 13 % і 1,8-цинеол – до 4 %. Якість олії найкраща наприкінці масового цвітіння.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: лавандин, ефірна олія, компонентний склад, Херсонська область.

ВСТУП. Лавандин (*Lavandula hybrida* Rev.) – міжвидовий гібрид, отриманий у результаті природного або штучного схрещування лаванди вузьколистої (*L. angustifolia* Mill.) і лаванди широколистої (*L. latifolia* Medic.). Він відомий ще із середини XVIII століття. В умовах Криму біохімією рослини займався багато авторів (Т.Г. Мухортова [2], В.І. Машанов [1], В.Д. Работягов, Ю.А. Акимов [3, 4] та ін.).

Ефірна олія, заради якої вирощують лавандин, високо цінується на світовому ринку [2]. Це чудовий антисептичний та антиспазмолітичний засіб. Він проявляє сечогінну, протисудомну і седативну дії, поліпшує мозковий кровообіг. Разом із лавандовою олією її застосовують при лікуванні неврастенії, ревматизму, серцево-судинних захворювань, сечокам'яної хвороби, для лікувальних ванн при запаленні суглобів, вивихах і паралічах, а також як ранозагоюючий засіб [1]. Перераховані вище позитивні властивості лавандину характеризують його як дуже перспективну культуру.

У зв'язку з вирощуванням лавандину в умовах Херсонської області (дослідне господарство "Новокаховське"), одним із основних завдань було вивчення компонентного складу ефірної олії в цьому регіоні. Необхідно було з'ясувати: чи відбувається зміна складу ефірної олії, в яку фазу розвитку краще співвідношення компонентів і яка фаза розвитку рослини є оптимальною для збирання сировини.

© Л.В. Свиденко, В.Д. Работягов, 2006.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Матеріалом для досліджень були саджанці лавандину (сорти Темп і Ефект), отримані з відділу нових ароматичних та лікарських рослин Нікітського ботанічного саду. Масову частку ефірної олії визначали методом гідродистиляції на апаратах Клевенджера із свіжозібраних рослин. Вивчення складу ефірних олій проводили методом високоефективної газорідної хроматографії на кварцових капілярних колонках з рідкими фазами Carbowax-20M і SE-30 (30 м, вн. діам. 0,25). Умови аналізу: 50 °С, 3 град/хв. Для ідентифікації індивідуальних терпеноїдів використовували метод індексів утримання, а також метод добавок чистих речовин і суміш відомого хімічного складу.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Ефірна олія лавандину, отримана з рослин, вирощених в умовах Херсонської області, являє собою легкорухливу прозору, безбарвну або світложовту рідину. При аналізі її компонентного складу нами ідентифіковано 29 терпенових сполук. До складу ефірної олії входять вуглеводні, спирти, альдегіди, кетони, складні ефіри й інші сполуки. Основними компонентами є ліналоол – до 47 %, ліналілацетат – до 28 %, борнеол – до 6 %, камфора – до 13 % і 1,8-цинеол – до 4 % (рис. 1).

Вивчення динаміки накопичення основних компонентів ефірної олії за фазами розвитку лавандину, дало можливість виявити такі зако-

номірності. У процесі розвитку рослин ефірна олія лавандину зазнає ряд послідовних змін. У фазу фарбованого бутона в ефірній олії міститься 25,50 % складних ефірів, з яких 21,60 % ліналілацетату (рис. 2). Спирти в сумі складають 46,0 %, із них ліналоол – 35,64 %, борнеол – 5,75 %, гераніол – 1,57 %, α -терпінеол – 2,04 %. У цю фазу характерна максимальна кількість камфори (13,35 %) і 1,8-цинеолу (4,28 %).

У міру розвитку рослин у фазу початку цвітіння вміст ліналілацетату зменшується на 1,0 % і складає 20,64 %. Знижується біосинтез камфори і борнеолу. Максимальний вміст ліналілацетату спостерігається у фазу масового цвітіння – 28,01 %. Наприкінці цвітіння його кількість зменшується на 12,36 % і становить 15,65 %.

Згідно з літературними даними, негативний вплив на якість ефірної олії лавандину має камфора [4], тому необхідне вивчення її біогенезу за фазами розвитку. Вміст камфори на початку цвітіння знижується на 0,39 % і складає 12,96 %. У фазу масового цвітіння її кількість продовжує зменшуватися і становить 11,61 %.

Найнижчий вміст камфори (9,31 %) спостерігається в останні дні масового цвітіння. Наприкінці цвітіння її кількість знову підвищується (до 10,55 %).

Іншим небажаним компонентом ефірної олії, що знижує її якість, є 1,8-цинеол. У ході досліджень встановлено, що максимальний його вміст (4,28 %) має місце у фазу бутонізації. У фазу початку цвітіння відбувається різке зниження його біосинтезу до 1,74 %. У фазу масового цвітіння спостерігається незначне зменшення вмісту 1,8-цинеолу (1,61 %), у фазу кінця цвітіння – збільшення його кількості до 2,46 %.

Що стосується спиртів, зокрема ліналоолу, то його вміст майже протягом усього періоду розвитку суцвіть збільшується. Починаючи від фази бутонізації, він зростає (на 7,54 %) і на початку цвітіння складає 43,18 %, у фазу масового цвітіння незначно зменшується (на 0,73 %) і становить 42,45 %. Наприкінці цвітіння вміст знову збільшується (на 4,34 %) і складає 46,79 %.

Вуглеводні у великій кількості накопичуються в період бутонізації.

Таблиця 1 – Порівняльна характеристика складу ефірної олії лавандину в умовах Херсонської області й південного узбережжя Криму.

№ за/п	Компоненти	Нікітський сад		Дослідне господарство "Новокаховське"	
		Сорт Темп	Сорт Ефект	Сорт Темп	Сорт Ефект
1	а-пінен	–	–	0,33	0,27
2	камфен	–	–	0,38	0,44
3	сабінен	–	–	0,21	0,10
4	б-пінен	–	–	0,16	0,11
5	мірцен	–	–	0,60	0,70
6	а-феландрен	–	–	0,38	0,17
7	п-цимол	–	–	0,27	0,36
8	а-терпінен	–	–	0,29	0,18
9	1,8-цинеол	3,33	2,78	1,61	1,74
10	транс-б-оцимен	–	–	2,25	2,46
11	октанон 3	–	–	0,40	0,57
12	октанол	–	0,87	0,23	0
13	ліналоолоксид-1	–	–	0,20	0,10
14	ліналоолоксид-2	–	–	0,34	0,10
15	ліналоол	45,31	50,42	42,45	43,18
16	камфора	11,22	0,42	11,61	12,96
17	борнеол	4,55	6,97	4,00	4,45
18	терпінен-4ол	1,20	8,98	0,52	0,62
19	а-терпінеол	1,45	1,90	1,59	2,83
20	нерол	–	–	0,30	0,57
21	гераніол	–	–	0,60	1,52
22	ліналілацетат	22,31	23,18	28,01	20,64
23	борнілацетат	0,46	0	1,15	1,26
24	нерилацетат	0,18	0,27	0,45	0,67
25	геранілацетат	0,34	0,47	0,45	1,37
26	каріофілен	0,56	0	0,67	0,75
27	невідомий 1	–	–	0,3	0,10
28	невідомий 2	–	–	0,10	1,29
29	невідомий 3	–	–	0,98	0,59

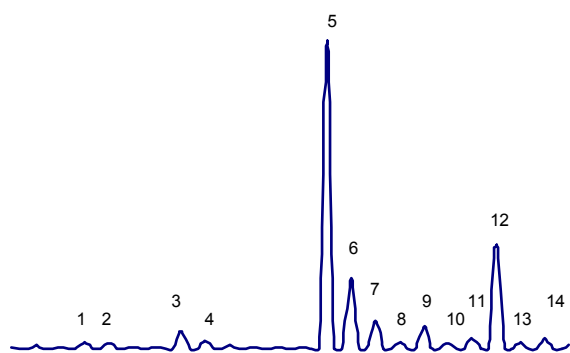


Рис. 1. Хроматограма ефірної олії лавандину: 1 – мірцен, 2 – а-феландрен, 3 – 1,8-цинеол, 4 – транс- β -оцимен, 5 – ліналоол, 6- камфора, 7 – борнеол, 8 – терпінен-4-ол, 9 – а-терпинеол, 10 – нерол, 11 – гераніол, 12 – ліналілацетат, 13 – нерилацетат, 14 – геранілацетат.

Таким чином, вивчення компонентного складу ефірної олії лавандину в умовах Херсонської області показало, що ефірна олія лавандину сорту Темп у процесі вегетації рослин містить ліналоолу від 35 до 47 %, ліналілацетату – від 21 до 28 %, камфори – від 9 до 12 %, 1,8-цинеолу – від 2 до 4 % і борнеолу – від 4 до 5 %, що відповідає добрій якості ефірної олії. Критерієм парфумерних позитивних якостей ефірної олії лавандину є вміст у ньому складних ефірів, серед яких основне місце належить ліналілацетату, тому оптимальною фазою збирання рослини є масове цвітіння, у цю фазу лавандин синтезує максимальну кількість ліналілацетату (28 %) і мінімальну кількість камфори (9,0 %) та 1,8-цинеолу (1,5 %).

Нами проведено порівняльне вивчення компонентного складу ефірної олії рослин в умовах Херсонської області й південного узбережжя Криму (Нікітський ботанічний сад).

Аналіз даних показав, що хімічний склад ефірної олії лавандину сортів Темп і Ефект, отриманого в Херсонській області, характеризується наявністю вуглеводнів, що відсутні в олії, одержаній у Нікітському саду (табл. 1).

Є також відмінність у відсотковому співвідношенні основних компонентів ефірної олії. Так, масова частка геранілацетату в умовах Херсонської області більша (0,45 % – сорт Темп і 1,37 % – сорт Ефект), ніж на південному узбережжі Криму (0,34 % – сорт Темп і 0,47 % – сорт Ефект). Перевершує ефірна олія лавандину і за відсотковим вмістом борнілацетату, нерилацетату і каріофілену. Ліналілацетату в Херсонській області міститься більше на 5,71 % (сорт Темп). Що стосується компонентів, які погіршують якість олії, то камфори на південному узбережжі Криму менше, ніж у Херсонській області, а 1,8-цинеолу більше.

ВИСНОВКИ. Вивчаючи компонентний склад ефірної олії лавандину, отриманої з рослин, вирощених в умовах Херсонської області, можна зробити такі висновки:

- олія відповідає вимогам ТУ і може використовуватися у медицині й парфумерії;
- до її складу входять 29 компонентів; основними компонентами є ліналоол – до 47 %, ліналілацетат – до 28 %, борнеол – до 6 %, камфора – до 13 % і 1,8-цинеол – до 4 %;
- за якістю олія не поступається тій, що отримана з рослин, вирощених на південному узбережжі Криму;
- якість олії найкраща наприкінці масового цвітіння, тому що в цей період найвищий вміст ліналілацетату і мінімальна кількість 1,8-цинеолу та камфори.

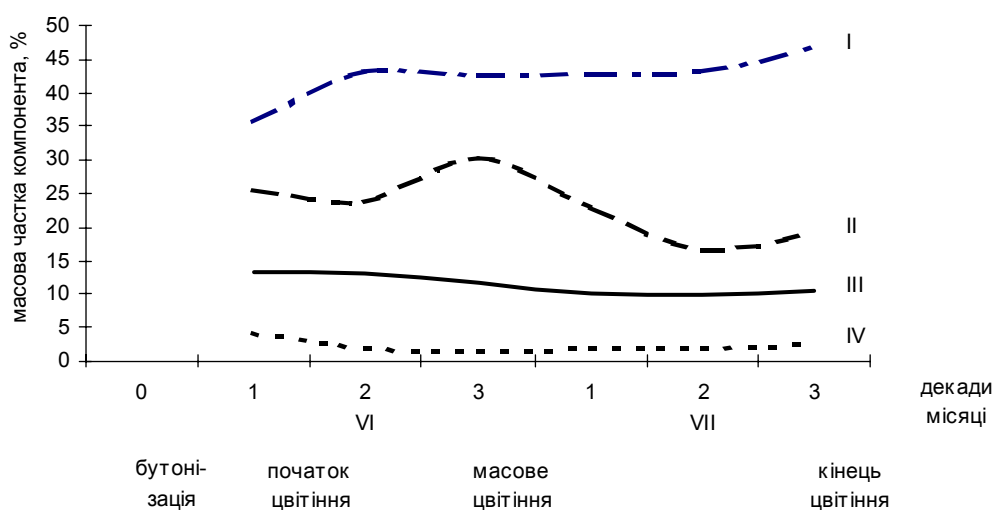


Рис. 2. Вміст компонентів ефірної олії лавандину залежно від фази розвитку: I – ліналоол, II – складні ефіри, III – камфора, IV – 1,8-цинеол.

ЛІТЕРАТУРА

1. Машанов В.Н. Новые эфирномасличные культуры. – Симферополь: Таврия, 1988. – 160 с.
2. Мухортова Т.Г. Морфо-биологические и хозяйственные особенности лавандина в условиях Крыма: Автореф. дисс. ... канд. с/х наук. – Донецк, 1974. – 20 с.
3. Работягов В.Д., Акимов Ю.А. Наследование содержания и состава эфирного масла при межвидовой гибридизации лаванды // Генетика. – 1986. – **22**, № 6. – С. 1163-1172.
4. Работягов В.Д., Акимов Ю.А. Наследование содержания и состава эфирного масла у тетра- и сесквидиплоидов лаванды // Генетика. – 1990. – **6**, № 2. – С. 283-291.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ЭФИРНОГО МАСЛА У ЛАВАНДИНА В УСЛОВИЯХ ХЕРСОНСКОЙ ОБЛАСТИ

Л.В. Свиденко¹, В.Д. Работягов²

ОПЫТНОЕ ХОЗЯЙСТВО "НОВОКАХОВСКОЕ" НИКИТСКОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА –
НАЦИОНАЛЬНОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА¹
НИКИТСКИЙ БОТАНИЧЕСКИЙ САД – НАЦИОНАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР²

Резюме

В эфирном масле лавандина идентифицировано 29 компонентов. Основными являются линалоол – до 47 %, линалилацетат – до 28 %, борнеол – до 6 %, камфора – до 13 % и 1,8-цинеол – до 4 %. Качество масла наилучшее в конце массового цветения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: лавандин, эфирное масло, компонентный состав, Херсонская область.

VARIABILITY OF ESSENTIAL OIL COMPONENT STRUCTURE OF *LAVANDULA HYBRIDA* REV. IN CONDITIONS OF KHERSON AREA

L.V. Svydenko¹, V.D. Rabotiagov²

EXPERIMENTAL FARM "NOVOKAKHOVSKE" OF NIKITSKY BOTANICAL GARDEN –
NATIONAL SCIENTIFIC CENTRE¹
NIKITSKY BOTANICAL GARDEN – NATIONAL SCIENTIFIC CENTRE²

Summary

29 components have been identified in essential oil of *Lavandula hybrida* Rev. The principal components are linalyl ester – up to 47 %, linalylacetat – up to 28 %, baras camphor – up to 6 %, camphor – up to 13 % and 1,8-cineole – up to 4 %. The quality of oil is the best at the end of mass blooming.

Key words: *Lavandula hybrida* Rev., essential oil, component structure, Kherson area.

Отримано 05.09.2005 р.

Адреса для листування: Л.В. Свиденко, вул. Садова, 1, с. Плодове, Нова Каховка, Херсонська обл., 74992, Україна.

ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОЕЛЕМЕНТНОГО СКЛАДУ ВИДІВ РОДУ ЩАВЕЛЬ ТА ЇХ ФІТОСУБСТАНЦІЙ

Л.В. Бензель, І.О. Кос, І.Л. Бензель

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. Д. ГАЛИЦЬКОГО

Встановлено якісний склад та кількісний вміст мікроелементів у надземній і підземній частинах видів роду щавель флори України та в отриманих із них екстрактах. Визначено коефіцієнти біологічного нагромадження мікроелементів у сировині.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **види роду щавель, мікроелементи, екстракт.**

ВСТУП. Останнім часом велику увагу приділяють біологічній ролі мікроелементів, зокрема їхньому впливу на проходження багатьох фізіологічних процесів. Відомо, що мікроелементи тісно пов'язані з гормонами, вітамінами, ферментами [2, 7, 9], беруть участь в активізації фармакологічної дії лікарських засобів [4, 6].

Одним з основних джерел надходження мікроелементів в організм людини, поряд з медичними засобами, є продукти харчування, зокрема рослинного походження. Мінеральні речовини рослин – фізіологічно близькі організму людини, являють собою природний, добре збалансований комплекс макро- і мікроелементів, тому вони засвоюються повніше, ніж штучні суміші мікроелементів [3, 5].

Окрім того, мікроелементи впливають на терапевтичний ефект рослинних біологічно активних речовин. Внесені в ґрунт, при культивуванні лікарської рослини, вони сприяють синтезу та нагромадженню рослиною фізіологічно активних сполук [1].

Розвиток патологічного процесу в організмі часто супроводжується порушенням мікроелементного обміну [1, 3]. Спостерігається також зв'язок між фармакологічною активністю рослинної сировини і вмістом у ній певних елементів.

Метою нашої роботи було встановлення мікроелементного складу деяких видів роду щавель і їх ліофілізованих екстрактів.

© Л.В. Бензель, І.О. Кос, І.Л. Бензель, 2006.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Вміст мікроелементів у золі підземної і надземної частин щавлів, ґрунтів і сухих екстрактів визначали методом емісійного спектрального аналізу на спарених дифракційному і кварцовому спектрографах при фотометрії на реєструючому мікрофотометрі.

Коефіцієнт біологічного нагромадження (КБН) мікроелементів у сировині розраховували за формулою:

$$\text{КБН} = \frac{\text{вміст елемента в сухій сировині, мг/кг}}{\text{вміст елемента в ґрунті, мг/кг}}$$

При значенні КБН, близькому до одиниці й вищому, рослину вважали як таку, що нагромаджує даний елемент.

Сировиною для дослідження були надземна і підземна частини щавлів кінського, кучерявого, водяного і кислого, заготовлені у Львівській області в 1998-2003 роках, і ґрунти з місця проростання відповідних рослин та на відстані 0,5-0,7 м від рослини.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати аналізів наведено в таблиці 1. Тоді, коли сировина була зібрана з інших місць зростання, аналіз ґрунту не проводили. У цьому випадку давали лише інтерпретацію результатів середнього вмісту елемента в рослинній сировині. Сировиною були надземні й підземні органи щавлів пірамідального (Львівська область) та лісового (Вінницька область) і надземна частина щавлю пучолопатевого (Львівська область) (табл. 2). Для щавлю прибережного,

Таблиця 1 – Коефіцієнти біологічного нагромадження мікроелементів у рослинній сировині

Об'єкт дослідження	Зола в %	Вміст мікроелементів у сировині та ґрунті, мг/кг (середнє із 3 визначень)																			
		Mo	Zn	Co	Sr	V	Cu	Ti	Zr	Cr	Ni	Ag	Pb	Sn	Cd	Be	Ba	Fe			
Корені щавлю кінського	15,2	6,2	180	3,2	480	60,0	28,0	420	46,9	14,0	10,9	0,2	3,5	9,4	0,9	0,9	1500	2300			
Трава щавлю кінського	11,1	5,1	110	3,4	290	12,3	71,9	104	64,9	13,9	6,5	0,3	3,5	9,6	1,9	–	1519	1339			
Ґрунт з місяця зростання рослини	90,2	6,7	280	13,0	49	7,6	31,0	1000	340	15,0	37,0	2,5	38,0	11,0	1,4	2,0	1300	16299			
Ґрунт з віддалі 0,5-0,7м	96,0	4,9	170	11,0	56	6,2	13,0	850	640	14,0	12,0	1,0	10,0	16,0	2,0	2,6	1360	8400			
КБН _{М,З} корені		0,92	0,64	0,25	9,80	7,91	0,90	0,42	0,14	0,93	0,30	0,08	0,09	0,86	0,71	0,5	1,15	0,14			
КБН ₀₅ корені		1,26	1,06	0,29	8,57	9,68	2,16	0,49	0,07	1,0	0,92	0,20	0,35	0,60	0,50	0,4	1,10	0,27			
КБН _{М,З} трава		0,77	0,39	0,26	5,92	1,61	2,32	0,10	0,19	0,93	0,18	0,11	0,09	0,88	1,41	–	1,17	0,08			
КБН ₀₅ трава		1,05	0,65	0,31	5,18	1,98	5,54	0,12	0,10	1,0	0,54	0,28	0,35	0,60	0,99	–	1,12	0,16			
Корені щавлю кучерявого	11,5	13,8	120	2,4	136	7,2	66,0	91	44,0	11,0	6,5	0,32	4,77	9,97	–	–	500	1799			
Трава щавлю кучерявого	14,2	9,08	140	2,3	560	9,51	56,9	48,0	43,0	10,9	5,99	1,62	3,03	10,3	4,01	–	500	1200			
Ґрунт з місяця зростання рослини	94,2	4,5	134	11,0	54	5,19	12,0	850	134	24,9	8,69	0,38	10,0	30,0	2,0	5,0	1300	7100			
Ґрунт з віддалі 0,5-0,7м	93,0	8,0	240	17,0	56	31,0	31,0	1100	610	27,0	42,0	0,54	28,0	13,0	5,0	10	1600	28000			
КБН _{М,З} корені		3,95	0,90	0,22	2,55	1,39	5,50	0,11	0,33	0,44	0,75	0,84	0,48	0,33	–	–	0,38	0,25			
КБН ₀₅ корені		2,22	0,50	0,14	2,46	0,23	2,13	0,08	0,07	0,41	0,15	0,59	0,17	0,77	–	–	0,31	0,06			
КБН _{М,З} трава		2,02	1,04	0,21	10,6	1,83	4,75	0,06	0,32	0,44	0,69	4,26	0,30	0,34	2,01	–	0,38	0,17			
КБН ₀₅ трава		1,14	0,58	0,14	9,99	0,31	1,84	0,04	0,07	0,41	0,14	3,0	0,11	0,79	0,80	–	0,31	0,04			
Корені щавлю водяного	10,2	11,2	160	4,1	600	55,9	71,9	420	55,9	15,0	18,2	–	4,22	9,51	0,98	1,27	1519	2900			
Трава щавлю водяного	25,9	11,9	350	4,59	650	25,9	89,5	154	43,0	14,0	22,0	–	6,99	10,39	2,01	1,0	1300	2384			
Ґрунт з місяця зростання рослини	92,3	4,8	260	9,0	54	8,7	26,0	490	239	17,0	16,0	1,7	14,9	14,4	4,0	1,5	1339	7800			
Ґрунт з віддалі 0,5-0,7м	91,2	11,5	320	16,0	50	27,0	29,0	1600	600	21,9	43,0	0,7	16,5	12,4	2,0	10,0	1600	28500			
КБН _{М,З} корені		2,33	0,62	0,46	11	6,43	2,77	0,86	0,23	0,88	1,14	–	0,28	0,66	0,25	0,85	1,13	0,37			
КБН ₀₅ корені		0,97	0,50	0,26	12	2,07	2,48	0,26	0,09	0,68	0,42	–	0,26	0,77	0,49	0,13	0,95	0,10			
КБН _{М,З} трава		2,49	1,35	0,51	12	2,99	3,45	0,31	0,18	0,82	1,38	–	0,47	0,72	0,50	0,62	0,97	0,31			
КБН ₀₅ трава		1,04	1,09	0,29	13	0,96	3,09	0,10	0,07	0,64	0,51	–	0,42	0,84	1,01	0,10	0,81	0,08			
Корені щавлю кислого	8,8	11,3	220	4,0	470	13,5	70,0	300	48,9	11,0	54,6	0,2	6,36	10,5	2,05	3,52	1300	1850			
Трава щавлю кислого	6,8	35,0	240	2,6	180	9,6	85,0	125	55,0	17,1	23,9	0,4	47,1	10,0	1,47	–	1200	1800			
Ґрунт з місяця зростання рослини	88,4	8,0	233	11,4	56	24,0	30,9	1130	259	15,9	49,0	0,4	23,0	8,5	3,0	2,0	1520	14000			
Ґрунт з віддалі 0,5-0,7м	94,2	6,0	270	16,0	61	5,7	23,0	490	80,9	16,0	28,0	0,4	14,0	24,0	2,99	3,0	1350	11400			
КБН _{М,З} корені		1,41	0,94	0,35	8,4	0,56	2,26	0,77	0,19	0,69	1,12	0,6	0,28	1,23	0,68	1,76	0,86	0,13			
КБН ₀₅ корені		1,88	0,81	0,25	7,7	2,37	3,04	0,61	0,06	0,69	1,95	0,6	0,45	0,44	0,69	1,17	0,96	0,16			
КБН _{М,З} трава		4,38	1,03	0,23	3,2	0,40	2,74	0,11	0,21	1,07	0,49	1,0	2,05	1,18	0,49	–	0,79	0,13			
КБН ₀₅ трава		5,83	0,89	0,16	2,9	1,68	3,70	0,26	0,07	1,07	0,86	1,1	3,36	0,42	0,49	–	0,89	0,16			

Таблиця 2 – Мікроелементний склад рослин роду щавель

Об'єкт дослідження	Зола в %	Вміст мікроелементів у рослинній сировині, мг/кг (середнє із 3 визначень)																
		Mo	Zn	Co	Sr	V	Cu	Ti	Zr	Cr	Ni	Ag	Pb	Sn	Cd	Be	Ba	Fe
Корені щавлю пірамідального	11,9	5,5	124	4,03	470	27	37	400	55	12	8,5	0,31	4,8	10,0	1,0	1,0	500	1600
Трава щавлю пірамідального	9,4	6,2	70	2,45	620	12	28	155	58	11	7,4	0,20	9,5	10,2	2,5	-	500	1100
Корені щавлю лісового	15,2	5,0	190	5,72	540	49	97	230	43	12	12,0	0,25	4,2	10,5	-	1,2	500	1400
Трава щавлю лісового	32,9	8,0	120	2,60	74	26	90	270	43	12	5,6	0,25	4,0	10,0	2,0	-	500	1350
Трава щавлю пучкоплатевого	5,1	12,4	230	2,60	560	24	63	260	53	36	13,5	0,39	3,5	10,2	-	-	2600	1800

Таблиця 3 – Мікроелементний склад сировини та ліофілізатів щавлю прибережного

Об'єкт дослідження	Зола в %	Вміст мікроелементів у сировині та фітосубстанціях, мг/кг (середнє із 3 визначень)																
		Mo	Zn	Co	Sr	V	Cu	Ti	Zr	Cr	Ni	Ag	Pb	Sn	Cd	Be	Ba	Fe
Корені щавлю прибережного	15,7	6,18	200	1,70	450	4,97	92	81	47	-	14	0,19	8,03	10,0	-	-	631	2300
Трава щавлю прибережного	7,0	5,72	70	4,00	170	12,00	63	57	44	11	5	0,29	5,43	10,7	2,00	1,0	500	1840
Ліофілізат коренів щавлю прибережного	4,8	25,0	550	3,21	98	3,54	105	23	42	14	12	0,62	11,0	8,3	1,46	-	500	1400
Ліофілізат трави щавлю прибережного	14,1	5,67	240	1,91	121	3,97	97	31	42	18	56	0,24	7,23	9,0	2,00	-	500	1000

зібраного у Львівській області, було встановлено вміст мікроелементів у рослинній сировині та відповідних ліофілізатах. А тому нами опрацьовані оптимальні ресурсозберігальні умови виділення суми біологічно активних речовин з коренів і трави щавлю прибережного. Отримані ліофілізовані екстракти (ЩП-1, ЩП-2) являють собою комплекс фізіологічно активних речовин у вигляді гігроскопічного аморфного порошку світло-коричневого кольору з легким специфічним запахом і терпким смаком. Вихід ліофілізатів у середньому становить 23-35 %. У фітосубстанціях містяться дубильні речовини, антрахінони, фенолкарбонові кислоти, флавоноїди, полісахариди, вітаміни С, К, РР, каротиноїди і мінеральні елементи. Результати досліджень наведено в таблиці 3.

Як видно з даних таблиць 1, 2 і 3, рослини роду щавель нагромаджують значною мірою есенціальні елементи: мідь (входить до складу деяких оксидативних ферментів, стимулює кровотворення, підвищує захисні сили організму); молібден (міститься у флавінозалежних металоферментах, стабілізує глюкокортикоїдні рецептори); бор (бере участь у ферментативних процесах, проявляє помітний вплив на обмін кальцію, фосфору й, особливо, магнію); хром (взаємодіє з нуклеїновими кислотами,

підвищує активність інсуліну), а також потенційно токсичний елемент стронцій (впливає на процеси осифікації, активність пепсину, центральну нервову систему) [8].

У ліофілізатах спостерігається підвищений вміст молібдену, цинку, міді, марганцю порівняно з їх концентрацією в рослинній сировині. Концентрація алюмінію у ліофілізатах значно нижча, а свинцю, барію, стронцію – практично така ж, як і в сировині.

Високий вміст барію та алюмінію може бути причиною інтоксикації великої рогатої худоби при поїданні великої кількості зелених рослин. Щодо вмісту мікроелементів у зразках ґрунту, то відомо, що багаторічна рослина впливає на накопичення окремих з них біля самої рослини. Так, щавлі кінський і кислий аналогічно поводять себе відносно Mo, Sr, V, Cu, Ti, Ni, Cd.

ВИСНОВКИ. 1. У надземній і підземній частинах 8 рослин роду щавель досліджено якісний склад і кількісний вміст мікроелементів.

2. Встановлено КБН мікроелементів у сировині щавлів кінського, кучерявого, водяного і кислого.

3. Розроблено способи отримання фітосубстанцій з рослинної сировини щавлю прибережного і вивчено їх мікроелементний склад.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бабенко Г.А., Решеткина И.П. Применение микроэлементов в медицине. – К.: Здоров'я, 1971. – 220 с.
2. Войнар А.И. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека. – М.: Наука, 1960. – 312 с.
3. Исаев Ю.А. Лечение микроэлементами, металлами и минералами. – К.: Здоров'я, 1992. – 119 с.
4. Ищенко В.И. Микроэлементы в витаминном лекарственном сырье и витаминных препаратах: Автореф. дис. ... канд. фармац. наук. – Витебск, 1956. – 15 с.
5. Ловкова М.Я., Рабинович А.М., Пономарьова С.М. и др. Почему растения лечат. – М.: Наука, 1989. – 256 с.
6. Ноздрюхина Л.Р., Гринкевич Н.И. Нарушения микроэлементного обмена и пути его корреляции. – М.: Наука, 1980. – 280 с.
7. Пейве Л.В. Микроэлементы и ферменты. – Рига: Изд-во АН Латв. ССР, 1960. – 243 с.
8. Попов А.І., Попков В.О., Грищенко О.М. Елементний склад лікарської рослинної сировини як показник геохімічної екології рослинних організмів // Фармац. журн. – 1994. – № 4. – С. 91-97.
9. Смоляр В.И. Гипо- и гипермикроэлементозы. – К.: Здоров'я, 1989. – 152 с.

ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ВИДОВ РОДА ЩАВЕЛЬ И ИХ ФИТОСУБСТАНЦИЙ

Л.В. Бензель, О.И. Кос, И.Л. Бензель
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. Д. ГАЛИЦКОГО

Резюме

Установлено качественный состав и количественное содержание микроэлементов в надземной и подземной частях видов рода щавель флоры Украины и в полученных из них экстрактах. Определены коэффициенты биологического накопления микроэлементов в сырье.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **виды рода щавель, микроэлементы, экстракт.**

DETERMINATION OF MICROELEMENT CONTENT OF RUMEX SPP. AND THEIR PHYTOPHARMACEUTICAL SUBSTANCES

L.V. Benzel, O.I. Kos, I.L. Benzel
LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY

Summary

There was investigated qualitative composition and quantitative content of microelements in above-ground and subterranean parts in species of Rumex spp., that are native in the flora of Ukraine, and also in extracts obtained on their base. The coefficients of biological accumulation of microelements in the medicinal plant raw material were determined.

KEY WORDS: **species of Rumex spp., microelements, extract.**

Отримано 06.03.2006 р.

Адреса для листування: Л.В. Бензель, Львівський національний медичний університет ім. Д.Галицького, вул. Пекарська, 69а, Львів, 79001, 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" Тернопільського державного медичного університету
ім. І.Я. Горбачевського, майдан Волі, 1, м.Тернопіль, 46001
тел./факс (0352) 52-41-83; тел. 52-78-54

Медична хімія — т. 8, № 2, 2006

ВПЛИВ НІТРОПРУСИДУ НАТРІЮ НА 5-АМІНОЛЕВУЛІНАТСИНТАЗНУ АКТИВНІСТЬ І ВМІСТ ДЕЯКИХ ГЕМОПРОТЕЇНІВ У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ

Н.М. Іншина, І.В. Нікітченко, П.А. Каліман
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В.Н. КАРАЗІНА

Вивчено активність 5-амінолевулінаТСинтази і каталази та насичення гемом триптофан-2,3-діоксигенази, вміст загального гему і цитохрому Р-450 в печінці щурів при введенні нітропрусиду натрію. Встановлено зниження вмісту загального гему, цитохрому Р-450 та активності каталази, а також підвищення активності 5-амінолевулінаТСинтази через 24 год після введення нітропрусиду натрію. Обговорюється взаємозв'язок між активацією 5-АЛК-синтази і зменшенням вмісту гемопроТЕїнів у печінці щурів при дії нітропрусиду натрію.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: 5-амінолевулінаТСинтаза, триптофан-2,3-діоксигеназа, каталаза, цитохром Р-450, нітропрусид натрію.

ВСТУП. Печінка відіграє центральну роль у детоксикації ксенобіотиків і є одним з основних органів, що піддаються впливу NO [2]. Детоксикація ксенобіотиків здійснюється за участю основного гемопроТЕїну печінки – цитохрому Р-450. Відомо, що NO утворює стабільні нітрозильні комплекси з іонами металів, в основному з Fe (II) гемопроТЕїнів [3]. Згідно з даними роботи, [7] NO та NO-донори знижують вміст деяких ізоформ цитохрому Р-450 в гепатоцитах. Як відомо, відновлення вмісту пошкодженого цитохрому Р-450 відбувається за рахунок гему, синтезованого de novo.

Ключовим ферментом біосинтезу гему є 5-амінолевулінаТСинтаза (5-АЛК-синтаза, КФ 2.3.1.37). Основний механізм регуляції активності 5-АЛК-синтази реалізується через зміну концентрації вільного гему в клітині [18]. Як показник концентрації вільного гему в гепатоцитах використовують насичення гемом цитозольного гемозв'язувального білка – триптофан-2,3-діоксигенази (ТДО, КФ 1.13.11.11) [4].

Незважаючи на значну кількість робіт, присвячених механізмам дії NO, вплив даної сполуки на активність 5-АЛК-синтази, а також гемопроТЕїнів ТДО і каталази практично не досліджено.

Метою даної роботи було встановлення взаємозв'язку між активністю ключового ферменту біосинтезу гему – 5-АЛК-синтази і

вмістом внутрішньоклітинних гемопроТЕїнів у печінці щурів при дії NO. У роботі було досліджено 5-амінолевулінаТСинтазну та каталазну активність, активність і насичення гемом триптофан-2,3-діоксигенази, вміст загального гему і цитохрому Р-450 в печінці щурів при введенні нітропрусиду натрію.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі використовували щурів-самців лінії Вістар масою 150-180 г. Нітропрусид натрію вводили внутрішньочеревно в дозі 10 мкг/100 г. Тварин декапітували під легким ефірним наркозом через 2 і 24 год після введення нітропрусиду натрію. Печінку перфузували охолодженим фізіологічним розчином *in situ*.

Активність 5-АЛК-синтази визначали в гомогенаті печінки щурів за методом [10] і виражали в нмоль АЛК/мг білка.

Активність ТДО визначали в гомогенаті печінки за кількістю кінуреніну [4]. Активність холоферменту ТДО визначали без додавання, а загальну активність – з додаванням у середовище інкубації екзогенного геміну і виражали в нмоль кінуреніну/мг білка за 1 год. Насичення гемом ТДО розраховували як відношення активності холоферменту до загальної активності і виражали у відсотках.

Каталазну активність визначали в гомогенаті печінки спектрофотометричним методом за зменшенням кількості перекису водню [15] і виражали в мкмоль H_2O_2 /мг білка за 1 хв.

© Н.М. Іншина, І.В. Нікітченко, П.А. Каліман, 2006.

Вміст цитохрому Р-450 визначали за методом [11] і виражали в нмоль/мг білка.

Вміст загального гемму визначали методом диференційної спектрофотометрії, як описано в роботі [16], і виражали в нмоль/мг білка.

Вміст білка визначали за методом Лоурі в модифікації Міллера [12].

Статистичний аналіз одержаних результатів здійснювали за допомогою стандартного пакета комп'ютерної програми Excel. Достовірність змін оцінювали з використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що вміст загального гемму в печінці щурів знижується через 24 год після ін'єкції нітроприсуиду натрію (табл. 1).

Очевидно, зниження вмісту загального гемму при дії нітроприсуиду натрію є наслідком деградації внутрішньоклітинних гемопротейнів.

Як свідчать експериментальні дані, представлені в таблиці 1, активність каталази в печінці щурів знижується через 24 год після введення нітроприсуиду натрію. Зниження активності каталази при дії NO може бути пов'язане з утворенням комплексу "нітрозил-гем" у складі даного ферменту [3].

Вміст цитохрому Р-450 в печінці щурів знижується на 40 % порівняно з контролем через 24 год після ін'єкції нітроприсуиду натрію (табл. 1). При дії нітроприсуиду натрію *in vitro* вміст цитохрому Р-450 теж зменшується (табл. 2). При цьому відбувається конверсія цитохрому Р-450 в неактивну форму – цитохром Р-420. Зниження вмісту цитохрому Р-450 при дії NO та NO-донорів також показано в роботах [6, 13, 14].

Встановлено, що NO може спричинити зворотне і незворотне інгібування цитохрому Р-450 [13]. Зворотне інгібування цитохрому Р-450 при дії NO є наслідком утворення комплексу "нітрозил-гем", а незворотне пов'язане

з нітруванням залишків тирозину або окисненням сульфгідрильних груп у молекулі апоцитохрому Р-450 [14]. Очевидно, зниження вмісту цитохрому Р-450 в печінці щурів при дії нітроприсуиду натрію є наслідком незворотного інгібування даного гемопротейну.

Відомо, що вивільнення гемму з пошкоджених внутрішньоклітинних гемопротейнів може призводити до накопичення вільного гемму в гепатоцитах [1]. Показником концентрації вільного гемму в клітинах печінки є насичення гемом ТДО [4]. У печінці ссавців ТДО існує у двох формах: у вигляді каталітично активного гемопротейну – холоферменту і неактивного апоферменту. Співвідношення між активністю холоферменту і загальною активністю ТДО (насичення ТДО гемом) зростає при підвищенні концентрації вільного гемму в гепатоцитах.

Згідно з отриманими експериментальними даними (див. табл. 1), введення нітроприсуиду натрію не призводить до накопичення вільного гемму в клітинах печінки щурів, про що свідчить відсутність змін насичення ТДО гемом. Активність холоферменту і загальна активність ТДО в печінці щурів також не відрізняються від контрольних значень при дії нітроприсуиду натрію (див. табл. 1).

Через 24 год після введення нітроприсуиду натрію спостерігається зростання активності 5-АЛК-синтази в 1,5 раза порівняно з контролем (табл. 1). Очевидно, дане підвищення зумовлене активацією синтезу ферменту *de novo*. У роботі [9] було встановлено, що індукція 5-АЛК-синтази при дії деяких порфіриногенних сполук є наслідком деградації цитохрому Р-450. Дані роботи [6] свідчать про координацію біосинтезу гемму й апоцитохрому Р-450. За дії нітроприсуиду натрію активація 5-АЛК-синтази може бути пов'язана з деградацією не лише мікосомальних цитохромів Р-450, а й мітохондріальних гемопротейнів, зокрема компонентів дихального ланцюга мітохондрій.

Таблиця 1 – 5-АЛК-синтазна та каталазна активність, активність і насичення гемом ТДО, вміст цитохрому Р-450 і загального гемму в гомогенаті печінки щурів через 2 і 24 год після введення нітроприсуиду натрію (M±m, n=5-7)

Показник	Контроль	Нітроприсуид натрію	
		2 год	24 год
Загальний гем ^a	0,82±0,06	0,67±0,04	0,57±0,02*
Каталаза ^b	423±35	434±59	301±20*
Цитохром Р-450 ^a	0,163±0,015	0,172±0,029	0,096±0,010*
Холофермент ТДО ^c	2,23±0,36	1,60±0,18	2,47±0,64
Заг. активність ТДО ^c	4,60±0,84	4,33±0,82	5,24±0,61
Насич. Гемом ТДО, %	47,87±6,05	40,47±5,39	47,50±4,85
5-АЛК-синтаза ^d	0,120±0,012	0,117±0,015	0,179±0,020*

Примітка. * – p≤0,05 відносно контролю, а – нмоль/мг білка; b – мкмоль Н₂О₂/мг білка за 1 хв; c – нмоль кінуреніну/мг білка за 1 год; d – нмоль АЛК/мг білка за 1 год.

Таблиця 2 – Вміст цитохрому P-450 (нмоль/мг білка при інкубації гомогенату печінки щурів з нітропрусидом натрію (2,5 мМ) ($M \pm m$, $n=5-6$))

Контроль	Нітропрусид натрію
0,180±0,009	0,129±0,009*

Примітка. * – $p < 0,05$ відносно контролю.

Відомо, що цитотоксична дія NO реалізується через інгібування процесів переносу електронів і окиснювального фосфорилування в мітохондріях [3, 5]. Як показано в роботі [17], NO взаємодіє з гемом цитохромоксидази, що супроводжується інгібуванням даного ферменту. За умов зниження концентрації АТФ у клітині відбувається активація фактора транскрипції NRF-1 (nuclear respiratory factor), що координує біосинтез гему і компонентів дихального ланцюга мітохондрій [8]. Встанов-

лено, що зв'язування NRF-1 з промотором гена 5-АЛК-синтази призводить до активації транскрипції даного гена. Таким чином, підвищення активності 5-АЛК-синтази при введенні нітропрусиду натрію може бути зумовлене активацією синтезу ферменту de novo за участю NRF-1.

ВИСНОВКИ. 1. Введення нітропрусиду натрію призводить до зниження вмісту загального гему і цитохрому P-450, а також каталазної активності в печінці щурів.

2. Нітропрусид натрію не впливає на вміст вільного гему в клітинах печінки щурів.

3. Нітропрусид натрію спричиняє зростання активності 5-АЛК-синтази в печінці щурів через 24 год після введення. Активація 5-АЛК-синтази при дії нітропрусиду натрію, очевидно, спрямована на відновлення вмісту пошкоджених внутрішньоклітинних гемопротеїнів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Калиман П.А., Баранник Т.В. Метаболизм гема и оксидативный стресс // Укр. биохим. журн. – 2001. – **73**, № 1. – С. 5-14.
2. Корда М.М., Ярошенко Т.Я. Роль оксиду азоту в патогенезі ураження печінки ксенобіотиками // Мед. хімія. – 2005. – **7**, № 3. – С. 74-80.
3. Реутов В.П., Каюшин Л.П., Сорокина Е.Г. Физиологическая роль цикла окиси азота в организме человека и животных // Физиология человека. – 1994. – **20**, № 3. – С. 165-174.
4. Badawy A. A.-B. The functions and regulation of tryptophan pyrrolase // Progress in Tryptophan and Serotonin Research. – Berlin, 1984. – P. 641-650.
5. Brown G.C. Nitric oxide and mitochondrial respiration // Biochim. Biophys. Acta. – 1999. – **1411**, № 2-3. – P. 351-369.
6. Jover R., Hoffman F., Scheffler-Koch V., Lindberg R.L. Limited heme synthesis in porphobilinogen deaminase-deficient mice impairs transcriptional activation of specific cytochrome P450 genes by phenobarbital // Eur. J. Biochem. – 2000. – **267**, № 24. – P. 7128-7137.
7. Khatsenko O., Kikkawa Y. Nitric oxide differentially affects constitutive cytochrome P450 isoforms in rat liver // J. Pharm. Exp. Therap. – 1997. – **280**, № 3. – P. 1463-1470.
8. Li B., Holloszy J.O., Semenkovich C.F. Respiratory uncoupling induces δ -aminolevulinic acid synthase expression through a nuclear respiratory factor-1-dependent mechanism in hela cells // J. Biol. Chem. – 1999. – **274**, № 25. – P. 17534-17540.
9. Lim L.-K., Srivastava G., Brooker J.D. et al. Evidence that in chick embryos destruction of hepatic microsomal cytochrome P-450 is general mechanism of induction of δ -aminolevulinic acid synthase by porphyria-causing drugs // Biochem. J. – 1980. – **190**, № 3. – P. 516-519.
10. Marver H.S., Collins A., Tschudy D.P., Recheigl M.J. δ -Aminolevulinic acid synthetase. II. Induction in rat liver // J. Biol. Chem. – 1966. – **241**. – P. 4323-4329.
11. Matsubara T., Koike M., Tsuchi A. et al. Quantitative determination of cytochrome P450 in rat liver homogenate // Anal. Biochem. – 1976. – **75**. – P. 596-603.
12. Miller G.L. Protein determination for large numbers of samples // Anal. Chem. – 1959. – **31**, № 5. – P. 964-966.
13. Minamiyama Y., Takemura S., Imaoka S. et al. Irreversible inhibition of cytochrome P450 by nitric oxide // J. Pharm. Exp. Therap. – 1997. – **283**, № 3. – P. 1479-1485.
14. Morgan E.T., Ullrich V., Daiber A. et al. Cytochromes P450 and flavin monooxygenases-targets and sources of nitric oxide // Drug Metab. Dispos. – 2001. – **29**, № 11. – P. 1366-1376.
15. Murclund S., Nordensson I., Back O. Normal CuZn superoxide dismutase. Mn superoxide dismutase, catalase and glutathion peroxidase in Werner's syndrome // J. Gerontol. – 1981. – **36**, № 1. – P. 405-409.
16. Paul K.G., Theorell H., Akesson A. The molar light absorption of pyridine ferroprotoporphyrin (Pyri-

dine haemochromogen) // Acta Chem. Scand. – 1953. – 7. – P. 1284-1287.

17. Radi R., Cassina A., Hodara R. Nitric oxide and peroxynitrite interactions with mitochondria // Biol. Chem. – 2002. – 383, № 3-4. – P. 401-409.

18. Yamamoto M., Kure S., Eugel J.D., Higara K. Structure, turnover, and heme-mediated suppression of the level of mRNA encoding rat liver delta-aminolevulinic acid synthase // J. Biol. Chem. – 2001. – 263, № 31. – P. 15973-15979.

ВЛИЯНИЕ НИТРОПРУССИДА НАТРИЯ НА 5-АМИНОЛЕВУЛИНАТСИНТАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ И СОДЕРЖАНИЕ НЕКОТОРЫХ ГЕМОПРОТЕИНОВ В ПЕЧЕНИ КРЫС

Н.Н. Иншина, И.В. Никитченко, П.А. Калиман
ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. В.Н. КАРАЗИНА

Резюме

Изучены 5-аминолевулинатсинтазная и каталазная активность, активность и насыщение гемом триптофан-2,3-диоксигеназы, содержание общего гема и цитохрома P-450 в печени крыс при введении нитропрусида натрия. Установлено снижение содержания общего гема, цитохрома P-450 и активности каталазы, а также повышение активности 5-аминолевулинатсинтазы через 24 ч после введения нитропрусида натрия. Обсуждается взаимосвязь между активацией 5-аминолевулинатсинтазы и уменьшением содержания гемопротеинов в печени крыс при действии нитропрусида натрия.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: 5-аминолевулинатсинтаза, триптофан-2,3-диоксигеназа, каталаза, цитохром P-450, нитропруssid натрия.

INFLUENCE OF SODIUM NITROPRUSSIDE ON 5-AMINOLEVULINATE SYNTHASE ACTIVITY AND CONTENT OF SOME HEMOPROTEINS IN RAT LIVER

N.M. Inshyna, I.V. Nikitchenko, P.A. Kaliman
KHARKIV NATIONAL UNIVERSITY BY V.N. KARAZIN

Summary

The activity of 5-aminolevulinic acid synthase and catalase activity, activity and heme saturation of tryptophan-2,3-dioxygenase, total heme and cytochrome P-450 content in rat liver was studied after sodium nitroprusside administration. It has been established that content of total heme and cytochrome P-450, catalase activity are decreased, activity of 5-aminolevulinic acid synthase is increased in 24 h after sodium nitroprusside administration. The relationship between 5-aminolevulinic acid synthase activation and decrease of hemoprotein content in rat liver under sodium nitroprusside action is discussed.

KEY WORDS: 5-aminolevulinic acid synthase, tryptophan-2,3-dioxygenase, catalase, cytochrome P-450, sodium nitroprusside.

Отримано 10.01.2006 р.

Адреса для листування: Н.М. Іншина, вул. Селекційна, 40, с. Сад, Сумський р-н, Сумська обл., 42343, Україна.

ДІАБЕТИЧНА ДИСЛІПІДЕМІЯ: РОЛЬ У ПРОГРЕСУВАННІ АТЕРОСКЛЕРОЗУ ТА ЇЇ ОСОБЛИВОСТІ ЗАЛЕЖНО ВІД СТАНУ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І СТУПЕНЯ КОМПЕНСАЦІЇ ДІАБЕТУ

М.І. Швед, Л.П. Мазур, Л.П. Мартинюк

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

У статті висвітлено сучасні погляди щодо ролі діабетичної дисліпідемії у прогресуванні атеросклерозу та основних механізмів її розвитку. Вивчення особливостей ліпідного обміну та їх залежності від стану перекисного окиснення ліпідів і ступеня компенсації діабету в 56 хворих на цукровий діабет 1 і 2 типів показало, що дисліпідемія більш суттєво виражена у хворих з високою активністю перекисного окиснення ліпідів і незадовільною компенсацією основного захворювання.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: цукровий діабет 1 і 2 типів, дисліпідемія, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантна система захисту.

ВСТУП. За даними експертів, сьогодні у світі нараховується понад 190 млн хворих на цукровий діабет (ЦД) і у такої ж кількості осіб це захворювання не діагностовано. До 2025 р. число хворих на ЦД, старших 25 років, зросте до 300 млн осіб [6].

До застосування інсуліну зв'язок ЦД з атеросклерозом був фактично невідомим, летальний кінець часто був наслідком кетоацидозу. В кінці XIX століття і в перші два десятиліття XX століття з'явилися окремі повідомлення про атеросклероз і порушення ліпідного обміну при діабеті. За висловом діабетолога Е.Р. Joslin, "...діабет починається з жиру, і від жиру хворий на діабет помирає, раніше від коми, зараз від атеросклерозу". Ураження серця і судин діагностуються у 50-80 % хворих на ЦД, а при тривалому його перебізі – у 100 % [8].

Атеросклероз розвивається у хворих на ЦД 2 типу значно раніше (в середньому на 10 років), швидше прогресує і частіше дає ускладнення порівняно з "недіабетичною" популяцією. Вважають, що у пацієнтів із ЦД в розвитку прискореного атеросклерозу відіграють роль як "традиційні" фактори ризику (артеріальна гіпертензія, дисліпопротеїнемія, ожиріння, куріння, малорухомий спосіб життя), так і специфічні механізми атерогенезу (гіперглікемія, гіперінсулінемія, інсулінорезистентність, ендотеліальна дисфункція, порушення коагуляційних властивостей крові) [3, 22]. Згідно з результатами сліпого рандомізованого дослідження UKPDS, одним із основних факторів ризику

© М.І. Швед, Л.П. Мазур, Л.П. Мартинюк, 2006.

розвитку атеросклерозу у хворих на ЦД є дисліпопротеїнемія [12].

Для обміну ліпідів і ліпопротеїнів (ЛП) у хворих на ЦД характерні і кількісні зміни, обумовлені порушеннями функціонування специфічних ферментів, і якісні [2, 3, 16].

Згідно з даними літератури, у пацієнтів із ЦД 1 типу при доброму контролі за рівнем глюкози вміст ліпідів довго залишається нормальним [4]. Однак недостатня компенсація глікемії і розвиток нефропатії супроводжуються дисліпідемією. За даними досліджень, у таких хворих розвивається дисліпідемія з підвищенням рівнів загального холестерину (ЗХС), холестерину ліпопротеїнів низької густини (ХС ЛПНГ), холестерину ліпопротеїнів дуже низької густини (ХС ЛПДНГ), рівень холестерину ліпопротеїнів високої густини (ХС ЛПВГ) залишається без змін чи підвищений [7].

Для ЦД 2 типу характерна так звана "ліпідна триада" чи діабетична дисліпідемія: збільшення концентрації тригліцеридів (ТГ), зниження рівня ХС ЛПВГ, переважання у крові дрібних частинок ЛПНГ фенотипу В при відносно невисокому вмісті ХС ЛПНГ [3, 4, 7]. Гіпертригліцеридемія при ЦД є як самостійним патогенетичним фактором атеросклерозу, так і показником зростання вмісту атерогенних фракцій ліпопротеїнів [2]. При ЦД виявляють підвищений вміст малих щільних ЛПНГ, які утворюються з ЛПНГ, перевантажених ТГ [16, 20]. Малі щільні ЛПНГ більше піддаються глікозилюванню, пероксидації, що сповільнює їх виділення з плазми і підвищує атерогенність [4, 7]. Окрім цього, при ЦД 2 типу відмічають значне знижен-

ня толерантності до ліпідів, і постпрандіальна ліпемія у них має виражений і зтяжний характер [11, 13].

Метаболізм ліпідів багато в чому регулюється інсуліном. При потраплянні продуктів травлення їжі в кровотік інсулін інгібує ліпазу адипоцитів, знижуючи гідроліз тригліцеридів жирової тканини [7]. Одночасно інсулін безпосередньо зменшує продукцію ЛПДНГ у печінці внаслідок пригнічення синтезу апоВ-протеїнів. При порушенні чутливості до інсуліну у хворих на ЦД 2 типу порушення цих механізмів призводить до зростання продукції ТГ і ЛПДНГ у печінці. Стимулюючи фермент ліпопротеїнліпазу жирової і м'язової тканин, інсулін сприяє гідролізу ТГ у складі ЛПДНГ і хіломікронів [3]. Внаслідок зниження активності ліпопротеїнліпази у крові накопичуються перевантажени ТГ ЛПДНГ, хіломікрони та їх ремнанти, а через збільшення вмісту ТГ і глікозилювання змінюється структура апоЕ-протеїнів і порушується зв'язування цих ЛП зі специфічними рецепторами. При зниженні активності ліпопротеїнліпази в макрофагах відбувається їх перевантаження ТГ із трансформацією в пінисті клітини. Перевантажені ТГ ЛПДНГ активують фермент протеїнліпазу, яка гідролізує ТГ у складі ЛПВГ, ремнантах хіломікронів і ліпопротеїнів проміжної густини (ЛППГ), сприяючи таким чином їх перетворенню у ЛПНГ [3, 7].

ЛП у хворих на ЦД піддаються подвійній модифікації: глікозилюванню і пероксидації [7, 14]. У них має місце високий рівень неферментативного глікозилювання аполіпопротеїнів. Так, якщо в нормі рівень гліколізованих лізинових залишків ЛПНГ становить 1,3-2,0 %, то у хворих на ЦД ця величина зростає у 2-3 рази [9]. Гліколізовані ЛПНГ і ЛПДНГ триваліший час циркулюють у крові, зменшується їх здатність видалятися з кровотоку через специфічні рецептори [10]. Гліколізовані ЛП мають знижену функціональну активність, легше піддаються окисненню (пероксидації) [9].

Окиснювальна стійкість ЛПНГ і ЛПВГ у хворих на ЦД 1 типу й у групі здорових осіб суттєво не відрізняється. У пацієнтів із ЦД 2 типу виявляють достовірне зниження окиснювальної стійкості ліпопротеїнів [9]. Ліпопротеїни, які піддалися пероксидації, набувають вищого атерогенного потенціалу [1, 23]. Вони легше захоплюються макрофагами, які перетворюються у пінисті клітини, що сприяє ліпідній інфільтрації стінок судин [1]. Найбільш виражений атерогенний потенціал характерний для ліпопротеїнів, які піддалися глікоксидації.

На даний час важлива роль вільнорадикального окиснення (ВРО) у патогенезі ЦД підтверджена багатьма дослідженнями. Зростан-

ня показників ВРО ліпідів і зниження антиоксидантної забезпеченості відмічають як при експериментальному діабеті, так і в клінічних дослідженнях [18, 23]. Рядом авторів порушення ВРО (зокрема підвищення рівня малонового діальдегіду (МДА) як показника активації перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ)) виявлено вже на початкових стадіях розвитку ЦД [5].

Разом із тим, дані про стан антиоксидантної системи (АОС) при вперше виявленому ЦД відрізняються: вказують на зростання активності супероксиддисмутази (СОД), тенденцію до підвищення активності каталази; відмічають зниження активності глутатіонпероксидази (ГПО), вмісту вітамінів Е й А чи відсутність змін порівняно зі здоровими особами. При обстеженні хворих на ЦД, які тривалий час перебували у стані декомпенсації, відзначено зростання ПОЛ і зниження активності АОС [5]. Крім того, відмічено значне накопичення ацилгідроперекисів у хворих на ЦД 1 типу і більш виражену активацію ферментативного (НАДФ·Н-залежного) ПОЛ у пацієнтів із ЦД 2 типу [23].

При порівнюванні декількох показників, що характеризують стан ПОЛ і АОС, рядом дослідників виявлено неоднакове їх вираження [14, 15]. Так, рівні вторинних продуктів ПОЛ достовірно підвищуються у всіх хворих на ЦД і не нормалізуються при лікуванні. Рівні первинних продуктів ПОЛ можуть бути підвищеними, незмінними чи навіть зниженими порівняно з контрольною групою, вони швидше нормалізуються [15]. Відрізняється і вираження змін з боку ферментів, що характеризують АОС. Імовірно, такі різні дані пов'язані зі складними взаємозв'язками між усіма компонентами ПОЛ і АОС, виснаження одного з механізмів призводить до компенсаторного зростання активності інших [18].

Поява у крові модифікованих ЛП викликає автоімунний процес з утворенням специфічних антитіл до них. Це сприяє розвитку АС згідно з механізмами, які описуються автоімунною теорією атерогенезу [3, 9].

Метою дослідження було вивчити порушення ліпідного обміну, активність ПОЛ та АОС залежно від ступеня компенсації у хворих на цукровий діабет 1 і 2 типів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Показники ліпідного обміну, ПОЛ та АОС досліджено у 56 хворих на ЦД, з них 27 осіб – хворі на ЦД 1 типу (14 чоловіків і 13 жінок) та 29 осіб – хворі на ЦД 2 типу (14 чоловіків і 15 жінок). Усіх обстежених хворих було поділено, залежно від ступеня компенсації, на дві групи: з доброю компенсацією (рівень $HbA1c < 6,5\%$) – 24 особи, з незадовільною компенсацією (рівень

HbA1c > 6,5 %) – 32 особи. Середній їх вік становив (51,96±3,08) року, тривалість захворювання – (18,29±3,68) року. Контрольну групу склали 15 здорових людей того ж віку і статі, що і хворі дослідної групи.

Стан ліпідного обміну оцінювали за вмістом у сироватці крові ЗХС за методом Ілька (1962), ХС ЛПВГ – з використанням хлориду магнію (1978), ТГ – за G. Schettler (1975), загальних ліпідів (ЗЛ) – за N. Zöllner (1975), ЛПНГ – за Бурштейном (1969). Фракції ХС ЛПНГ, ХС ЛПДНГ розраховували за формулою W. Friedwald (1968), коефіцієнт атерогенності (КА) – за формулою В.С. Клімова (1989).

Рівень гліколізованого гемоглобіну визначали за колориметричним методом (Л.А. Данилова, Н.І. Лопатіна, 1986).

Стан ПОЛ оцінювали за рівнем МДА за методом L. Plascer (1985). АОС характеризували за параметрами глутатіону відновленого (ГВ) – реакція з п-меркур-бензоат-натрієм, СОД – за методом С.Н. Чеварі (1985), каталази – за методом А.К. Королюка (1988).

Статистичну обробку матеріалу проведено на персональному комп'ютері із застосуванням електронних таблиць Excel 2000 for Windows (Microsoft, USA).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Отримані результати свідчать про порушення показників ліпідограми у хворих на ЦД як 1, так і 2 типу.

У всіх хворих на ЦД 1 типу виявлено достовірне зростання вмісту ЗХС і ТГ. Відмітимо,

що їх рівні залишалися в межах норми у пацієнтів з доброю компенсацією захворювання і були більш суттєво вираженими при високих показниках HbA1c (табл. 1).

У хворих на ЦД 2 типу порушення показників ліпідного обміну були значно суттєвішими. У сироватці їх крові виявлено підвищений вміст ЗХС, ТГ та ХС ЛПНГ, знижений вміст ХС ЛПВГ. Варто зауважити, що ці зміни були більш виражені при незадовільній компенсації ЦД (див. табл. 1).

У 13 досліджуваних (23,2 %), з них у 9 (16,1 %) із ЦД 1 типу і 4 (7,1 %) із ЦД 2 типу, не виявлено порушень показників ліпідного обміну. Інші 43 досліджуваних (76,8 %) мали гіперхолестеринемію (ГХС) різного ступеня вираження, з них у 23 (41,1 %) – було поєднання ГХС та гіпертригліцеридемії (ГТГ). Відмітимо, що ізольована ГХС спостерігалась переважно у хворих на ЦД 1 типу, ГХС із ГТГ – у хворих на ЦД 2 типу.

У всіх групах хворих виявлено значну активацію ПОЛ, що супроводжувалася вираженим підвищенням рівнів МДА та порушенням функціонування АОС. У хворих на ЦД і 1, і 2 типу встановлено позитивний кореляційний зв'язок між рівнями МДА і ЗХС, ТГ, ЛПНГ (0,69...0,76) та негативний – між вмістом МДА і ХС ЛПВГ (-0,71...-0,75). Зауважимо, що у всіх групах хворих виявлено негативний кореляційний зв'язок між показниками активності АОС і рівнями ЗХС, ТГ, ЛПНГ (-0,65...-0,76) і позитивний – між вмістом ферментів АОС і ХС ЛПВГ (0,67...0,77).

Таблиця 1 – Параметри ліпідограми у хворих на ЦД 1 і 2 типів залежно від ступеня компенсації захворювання (M±m)

Показник	Контрольна група, n=15	Хворі на ЦД 1 типу		Хворі на ЦД 2 типу	
		Добра компенсація, n=11	Незадовільна компенсація, n=16	Добра компенсація, n=13	Незадовільна компенсація, n=16
ЗХС, ммоль/л	4,16±0,34	5,01±0,21*	6,03±0,36*,°	6,25±0,37*	7,58±0,37*,°
ТГ, ммоль/л	1,16±0,09	1,52±0,11*	1,86±0,11*,°	2,29±0,13*	2,83±0,15*,°
ЛПНГ, од.	40,02±3,47	44,92±3,01	46,89±3,12	54,25±3,59*	67,79±4,01*,°
ХС ЛПВГ, ммоль/л	1,33±0,11	1,28±0,09	1,25±0,08	0,88±0,05*	0,72±0,04*,°
ЗЛ, ммоль/л	6,20±0,51	5,58±0,32	6,27±0,29	7,42±0,64	8,36±0,72
ХС ЛПНГ, ммоль/л	2,30±0,18	2,97±0,18*	3,85±0,26*,°	4,23±0,24*	5,45±0,27*,°
ХС ЛПДНГ, ммоль/л	0,53±0,02	0,76±0,03*	0,93±0,05*,°	1,14±0,06*	1,41±0,08*,°
КА	2,13±0,20	2,91±0,19*	3,82±0,24*,°	6,10±0,37*	9,53±0,41*,°

Примітки. Тут і далі: 1. * – достовірність різниці між параметрами у хворих на ЦД і контролем. 2. ° – достовірність різниці між параметрами у хворих з доброю і незадовільною компенсацією.

Таблиця 2 – Стан ПОЛ та АОС у хворих на ЦД 1 та 2 типів залежно від ступеня компенсації захворювання (M±m)

Показник	Контрольна група, n=15	Хворі на ЦД 1 типу		Хворі на ЦД 2 типу	
		Добра компенсація, n=11	Незадовільна компенсація, n=16	Добра компенсація, n=13	Незадовільна компенсація, n=16
МДА, мкмоль/л	1,56±0,04	2,79±0,27*	3,96±0,26*,°	4,62±0,41*	5,83±0,48*,°
ГВ, мкмоль/л	60,52±2,13	56,28±3,25	46,73±3,37*,°	50,62±3,17	41,36±2,93*,°
СОД, ум. од./1 мл ер.	164,67±5,62	213,97±7,13	175,18±6,73*	136,13±6,23	112,84±5,47*,°
Каталаза, мкат/л	13,60±1,21	13,78±1,23	12,49±0,95	13,36±1,18	11,29±0,85*

У розвитку атеросклерозу у хворих на ЦД найважливіша роль належить дисліпідеміям. Нами встановлено відмінності між порушеннями ліпідного обміну у хворих на ЦД 1 і 2 типів. При ЦД 1 типу виявлено достовірне підвищення рівнів ЗХС і ТГ, у пацієнтів із ЦД 2 типу діагностовано суттєву дисліпідемію, яка характеризується вираженим зростанням рівнів ЗХС, ТГ, ЛПНГ та зниженням – ХС ЛПВГ, що збігається з даними літератури [12, 22]. За даними окремих авторів, причиною цього є гіперінсулінемія, яка виникає при ЦД 2 типу і корелює з дисліпідемією [17]. Вважають, що саме підвищений рівень інсуліну є пусковим фактором патогенетичних механізмів виникнення атеросклерозу [7, 19].

Слід відмітити, що якісна модифікація ліпідів у хворих на ЦД виникає внаслідок пригнічення ферментів АОС та активації ПОЛ. Нами виявлено суттєве збільшення вмісту в сироватці крові показника ПОЛ – МДА, тоді як зміни активності параметрів АОС були різнонаправленими. Це збігається з даними літератури і свідчить про складні взаємозв'язки між компонентами АОС, виснаження одного з механізмів

приводить до компенсаторного зростання активності інших [18].

Зауважимо, що нами виявлено взаємозв'язок між ступенем пригнічення ферментів АОС і активацією ПОЛ та вираженням дисліпідемії. Це свідчить про важливу роль пероксидації у розвитку атерогенних змін ліпідів і ЛП, що збігається з даними літератури [5, 12].

ВИСНОВКИ. 1. У хворих на ЦД 1 і 2 типів розвиваються різні типи дисліпідемій: при ЦД 1 типу виявлено достовірне підвищення рівнів ЗХС, ТГ, ХС ЛПНГ, ХС ЛПДНГ зі зростанням КА; у пацієнтів із ЦД 2 типу суттєво збільшуються рівні ЗХС, ТГ, ЛПНГ, ХС ЛПНГ, ХС ЛПДНГ та знижується вміст ХС ЛПВГ зі значним зростанням КА.

2. У хворих на ЦД виявлено суттєву активацію процесів ПОЛ і різнонаправлені зміни показників АОС, що асоціювалось з II або III типом дисліпідемії і сприяло прогресуванню атерогенезу.

3. При незадовільній компенсації ЦД виникають достовірно більш виражені порушення ліпідного обміну, АОС та ПОЛ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Антонова К.В., Недосугова Л.В., Балаболкин М.И. Влияние компенсации углеводного обмена на свободнорадикальное окисление липопротеидов низкой плотности и активность ферментативной антиоксидантной системы при сахарном диабете типа 2 // Проблемы эндокринологии. – 2003. – **49**, № 2. – С. 51-54.
2. Братусь В.В., Талаева Т.В. Диабет и атеросклероз. Роль диабетзависимых нарушений обмена липидов в ускоренном развитии атеросклероза // Укр. кардіолог. журн. – 2001. – № 3. – С. 84-91.
3. Братусь В.В., Шумаков В.А., Талаева Т.В. Атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, острый коронарный синдром. – К.: Четверта хвиля, 2004. – 575 с.
4. Доборджинидзе Л.М., Грацианский Н.А. Особенности диабетической дислипидемии и пути ее коррекции: эффект статинов // Проблемы эндокринологии. – 2001. – **47**, № 5. – С. 35-40.
5. Кашкалда Д.А., Филиппова Н.В., Никитина Л.Д. и др. Перекисное окисление липидов и состояние системы антиоксидантной защиты при инсулинзависимом сахарном диабете у детей и подростков // Эндокринология. – 2001. – **6**, № 1. – С. 37-43.
6. Маньковский Б.Н. Сердечно-сосудистые заболевания у больных сахарным диабетом: большой риск, большая эффективность профилактики? // Укр. кардіолог. журн. – 2002. – № 5. – С. 5-13.
7. Нетяженко В., Скибчик В., Соломенчук Т., Барна О. Проблемы атеросклерозу: роль диабетичної дисліпідемії // Ліки України. – 2003. – № 9. – С. 4-8.
8. Соколова Л.К. Стан вільцевих судин, ліпідного

обміну і рівень фібриногену у хворих на цукровий діабет та ішемічну хворобу серця // Ендокринологія. – 2002. – **7**, № 1. – С. 124-128.

9. Сыркин А.Л., Азизова О.А., Дриницина С.В. и др. Особенности атерогенной модификации липидов у больных ишемической болезнью сердца с сопутствующим сахарным диабетом // Клиническая медицина. – 2001. – № 4. – С. 25-29.

10. Талаева Т.В., Третьяк И.В., Братусь В.В. Протеогенные нарушения обмена липопротеинов и системный воспалительный процесс как следствие хронической алиментарной углеводной нагрузки // УКЖ. – 2002. – № 2. – С. 77-82.

11. Annuzzi G., De Natale C., Iovine C. et al. Insulin Resistance Is Independently Associated With Postprandial Alterations of Triglyceride-Rich Lipoproteins in Type 2 Diabetes Mellitus // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – Dec 2004. – **24**. – P. 2397-2402.

12. Carmena R., Duriez P., Fruchart J.-C. Atherogenic Lipoprotein Particles in Atherosclerosis // Circulation. – Jun 2004. – 109: III-2-III-7.

13. Ceriello A., Taboga C., Tonutti L. et al. Evidence for an Independent and Cumulative Effect of Postprandial Hypertriglyceridemia and Hyperglycemia on Endothelial Dysfunction and Oxidative Stress Generation: Effects of Short- and Long-Term Simvastatin Treatment // Circulation. – Sep 2002. – 106. – P. 1211-1218.

14. Hayden M.R., Tyagi S.C. Intimal redox stress: Accelerated atherosclerosis in metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus. Atherosclerosis // Cardiovascular Diabetology. – 2002. – **1**. – P. 3-9.

15. Helmersson J., Vessby B., Larsson A., Basu S.

Association of Type 2 Diabetes With Cyclooxygenase-Mediated Inflammation and Oxidative Stress in an Elderly Population // *Circulation*. – Apr 2004. – 109. – P. 1729-1734.

16. Hurst R.T., Lee R.W. Increased Incidence of Coronary Atherosclerosis in Type 2 Diabetes Mellitus: Mechanisms and Management // *Ann. Intern. Med.* – Nov 2003. – **139**. – P. 824-834.

17. Kareinen A., Viitanen L., Halonen P. et al. Cardiovascular Risk Factors Associated With Insulin Resistance Cluster in Families With Early-Onset Coronary Heart Disease // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – Aug 2001. – **21**. – P. 1346-1352.

18. Keane J.F., Loscalzo Jr. and Joseph. Diabetes, Oxidative Stress, and Platelet Activation // *Circulation*. – Jan 1999. – **99**. – P. 189-191.

19. Sattar N., Williams K., Sniderman A.D. et al. Comparison of the Associations of Apolipoprotein B and Non-High-Density Lipoprotein Cholesterol With Other Cardiovascular Risk Factors in Patients With the

Metabolic Syndrome in the Insulin Resistance Atherosclerosis Study // *Circulation*. – Oct 2004. – **110**. – P. 2687-2693.

20. Sniderman A.D., Scantlebury T., Cianflone K. Hypertriglyceridemic Hyperapo B: The Unappreciated Atherogenic Dyslipoproteinemia in Type 2 Diabetes Mellitus // *Ann. Intern. Med.* – Sep 2001. – **135**. – P. 447-459.

21. Twickler T.B., Dallinga-Thie G.M., Cohn J.S., Chapman M.J. Elevated Remnant-Like Particle Cholesterol Concentration: A Characteristic Feature of the Atherogenic Lipoprotein Phenotype // *Circulation*. – Apr 2004. – **109**. – P. 1918-1925.

22. Watkins P.J. ABC of diabetes: Cardiovascular disease, hypertension, and lipids // *BMJ*. – Apr 2003. – **326**. – P. 874-876.

23. Zhang L.F., Zalewski A., Liu Y. et al. Diabetes-Induced Oxidative Stress and Low-Grade Inflammation in Porcine Coronary Arteries // *Circulation*. – Jul 2003. – **108**. – P. 472-478.

ДИАБЕТИЧЕСКАЯ ДИСЛИПИДЕМИЯ: РОЛЬ В ПРОГРЕССИРОВАНИИ АТЕРОСКЛЕРОЗА И ЕЁ ОСОБЕННОСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОСТОЯНИЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И СТЕПЕНИ КОМПЕНСАЦИИ ДИАБЕТА

Н.И. Швед, Л.П. Мазур, Л.П. Мартынюк

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

В статье отображены современные взгляды на роль диабетической дислипидемии в прогрессировании атеросклероза и основные механизмы её развития. Изучение особенностей липидного обмена и их зависимости от состояния перекисного окисления липидов и степени компенсации диабета у 56 больных сахарным диабетом 1 и 2 типов показало, что дислипидемия более существенно выражена у больных с высокой активностью перекисного окисления липидов и неудовлетворительной компенсацией основного заболевания.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сахарный диабет 1 и 2 типов, дислипидемия, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система.

DIABETIC DYSLIPIDAEMIA: ITS ROLE IN THE ATHEROSCLEROSIS PROGRESSION AND PECULIARITIES DEPENDING ON THE LIPID PEROXIDATION CONDITION AND COMPENSATION GRADE OF DIABETES MELLITUS

M.I. Shved, L.P. Mazur, L.P. Martynyuk

TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I. YA. HORBACHEVSKY

Summary

Modern views on the role of the diabetic dyslipidaemia in the atherosclerosis progression and main mechanisms of its development are shown in the article. Studying of the peculiarities of the lipid metabolism and their dependence on the lipid peroxidation condition and compensation stage of diabetes in 56 patients with types 1 and 2 of diabetes mellitus showed that dyslipidaemia is more significantly marked in patients with high activity of lipid peroxidation and unsatisfactory compensation of the main disease.

KEY WORDS: diabetes mellitus type 1 and 2, dyslipidaemia, lipid peroxidation, antioxidative system.

Отримано 19.09.2005 р.

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

КОМП'ЮТЕРНЕ ПРОГНОЗУВАННЯ МОЖЛИВИХ ВИДІВ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ 1,2,4-ТРИАЗОЛО[4,3-а]ХІНОЛІНІВ

Д.С. Коваленко, Л.О. Омелянчик, О.А. Бражко
ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Проведено комп'ютерне прогнозування можливих видів біологічної активності серед 1,2,4-триазоло[4,3-а]хінолінів. Прогнозується широкий спектр біологічної активності, досліджуваних сполук та виявляється залежність "структура-дія" між фізико-хімічними властивостями сполук і їх біологічною дією.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: комп'ютерний прогноз, 1,2,4-триазоло[4,3-а]хіноліни, аналгезія, ліпофільність, залежність "структура-дія".

ВСТУП. Азотовмісні гетероцикли є субструктурними елементами багатьох синтетичних та ендогенних біологічно активних речовин. Це має відображення в різноманітті й широті біологічної дії азотовмісних гетероциклічних сполук. У зв'язку з цим, вони викликають особливий інтерес як об'єкти дослідження залежності "структура-біологічна активність".

Спектр дії одного із представників азотистих гетероциклів – хіноліну – досить великий, тому вірогідність прояву різноманітних паралельних (цільових та супровідних) ефектів досить висока. Однак експериментально дослідити максимально широкий спектр біологічних ефектів майже нереально.

В останні роки значне розповсюдження отримали підходи до вибору структур для цілеспрямованого синтезу, який базується на різноманітних моделях, що визначають зв'язок між структурою молекул та її біологічною дією (методи SAR, QSAR і т.) [2, 4, 7, 8, 9]. Для прогнозування біологічної активності в останнє десятиріччя було запропоновано різні дескриптори, серед них: топологічні індекси, які характеризують форму молекули, її розгалуженість, потенціал іонізації, електронегативність, розподіл зарядів, ліпофільність, молекулярну площину та інші [6, 3, 10, 11].

Єдиною реальною можливістю комплексного дослідження біологічної активності речовин є з одного боку, розвиток нових технологій комп'ютерного прогнозування та їхнє застосування для оцінки ймовірних видів біологічної

активності хімічних сполук з наступним тестуванням досліджуваних речовин відповідно до результатів прогнозу, з іншого – вивчення фізико-хімічних констант органічних молекул із метою проведення кореляції між ними та біологічними властивостями, що є необхідною передумовою для ефективного молекулярного дизайну.

Метою даного дослідження було моделювання перспективних біоактивних молекул з анальгетичною дією в ряду похідних 1,2,4-триазоло[4,3-а]хіноліну шляхом проведення віртуального скринінгу і виявлення залежності між даними комп'ютерного прогнозу та фізико-хімічними характеристиками (ліпофільність, рKa, молекулярна маса).

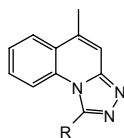
МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Прогнозування спектра біологічної активності проведено за допомогою комп'ютерної програми PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) [5, 9].

рKa визначали потенціометричним методом за допомогою рН-метра рН-150МА, використовуючи скляний комбінований електрод ЕСК-10301. Методика полягала в тому, що визначали рН робочого розчину (50 % етанол при 25 °С) через кожні 0,05 мл титранту (NaOH 0,1н), який готували з фіксанальних розчинів ГОСТ 8.135-74 [1]. рKa визначали, виходячи з 10 значень рН із дисперсією $4,09 \cdot 10^{-4}$ та точністю прямого виміру $\epsilon_{\text{cv}} = 2,88 \cdot 10^{-4}$.

Ліпофільність визначали за допомогою комп'ютерного пакета програм ChemOffice 6.0.1. Log P являє собою коефіцієнт розподілу

сполуки між н-октанолом та водою. Метод базується на 222 атомних складових, розрахованих на 1868 молекулах аналізом найменших квадратів. Цей метод дозволяє розрахувати Log P із стандартним відхиленням 0,43 Log P одиниці та може бути застосований відносно молекул, що включають водень, кисень, азот, сірку, галогени та атоми фосфору.

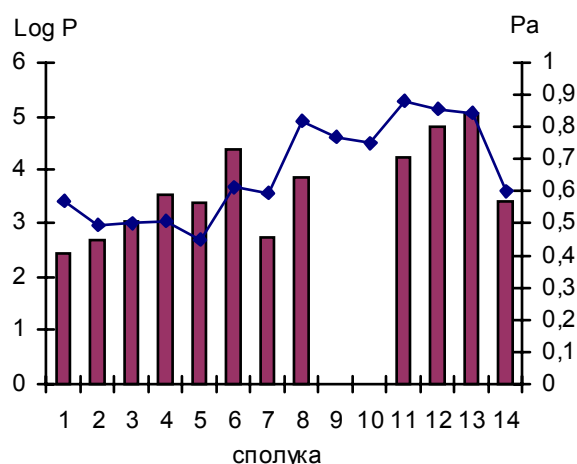
РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результат прогнозу подається у вигляді списку активностей із розрахованими значеннями вірогідності наявності (Pa) або відсутності (Pi) кожного з видів активності. У зв'язку з тим, що ці вірогідності розраховуються незалежно, їх сума не дорівнює одиниці. Комп'ютерне прогнозування видів біологічної активності було проведено для таких похідних 1,2,4-триазоло [4,3-а]хінолінів:



- 1-R=CH₂-CH₂-COOH;
- 2-R=CH₂-CH₂-COOCH₃;
- 3-R=CH₂-CH₂-COOC₂H₅;
- 4-R=CH₂-CH₂-COOC₃H₇;
- 5-R=CH₂-CH₂-COOCH(CH₃)₂;
- 6-R=CH₂-CH₂-COOC₆H₅;
- 7-R=CH=CH-COOH;
- 8-R=C₆H₅; 9-R=C₆H₄-4-NO₂;
- 10-R=C₆H₄-3-NO₂;
- 11-R=C₆H₅-2-OH;
- 12-R=C₆H₄-4-Cl;
- 13-R=C₆H₄-4-Br;
- 14-R=індол-2-іл.

Аналіз даних комп'ютерного прогнозу показав, що блокування карбоксильної групи ефірами дещо зменшує спектр прогнозованої біологічної активності. Заміна карбоксильного хвоста на феніл значно підвищує ліпофільність та вірогідність наявності анальгетичної, мембраностабілізуючої дії, а також схожості з ГАМКА та ГАМК рецепторами. Заміна водню у фенольному кільці на галогени (збільшення ліпофільності), окси- чи нітрогрупи (збільшення гідрофільності) знижує вірогідність наявності біологічної дії, але значно розширює її спектр, з'являються нові види біологічної активності.

Прогнозовані види біологічної дії зіставляли з такими фізико-хімічними характеристиками, як ліпофільність, рKa, молекулярна маса (правила Ліпінського) [10]. Найбільш цікавими виявились значення ліпофільності та рKa.



Діаграма 1. Залежність прогнозованої анальгезії, не опіоїдної від ліпофільності.

Як приклад розглянемо (5-метил-1,2,4-триазоло[4,3-а]хінолін-1-іл)-β-пропанову кислоту та (5-метил-1,2,4-триазоло[4,3-а]хінолін-1-іл)-β-пропанову кислоту, рKa яких, відповідно, дорівнює 4,87 та 3,60, що відповідає правилу Ліпінського.

Зіставлення прогнозованої анальгетичної дії з ліпофільністю (Log P) свідчить про можливу залежність "структура-дія". Збільшення ліпофільності підвищує прогнозовану анальгетичну дію (діаграма 1). Найбільш перспективними анальгетиками є сполуки з Log P =3,5-5,0 (сполуки 6, 8-13).

Дані комп'ютерного прогнозу свідчать про перспективність пошуку серед наведених похідних біорегуляторів, які можуть проявляти анальгетичну, протизапальну, антирадикальну, антиастматичну, антиепілептичну та інші види біологічної активності за рахунок структурної схожості з деякими рецепторами, здатності впливати на обмін циклічних нуклеотидів та іонів Ca²⁺.

ВИСНОВКИ. 1. Комп'ютерне моделювання за допомогою програми PASS 14 похідних 1,2,4-триазоло[4,3-а]хіноліну показало перспективність пошуку біологічно активних речовин з анальгетичною, протизапальною, антирадикальною, антиастматичною, антиепілептичною та іншими видами біологічної дії серед цього ряду сполук.

2. Показано залежність між комп'ютерним прогнозом біологічної дії та ліпофільністю (Log P) даних сполук, збільшення ліпофільності підвищує прогнозовану анальгетичну дію.

3. Встановлено, що цим сполукам залежність між прогнозованою біологічною дією та молекулярною масою не притаманна.

Таблиця 1 – Вірогідність наявності або відсутності біологічних видів активності

№ сполуки	Біологічна дія	Вірогідність наявності (Pa)	Вірогідність відсутності (Pi)	Log P	Mr
1	антагоніст рецептора ГАМК _A	0,651	0,022	2,45	255,272
	антиастматична	0,606	0,047		
	анальгезія неопіоїдна	0,571	0,031		
	інгібітор агрегації тромбоцитів	0,548	0,014		
	антагоніст тромбоксану В ₂	0,509	0,037		
	седативна	0,472	0,048		
	антидепресантна	0,431	0,050		
	анальгезивна	0,438	0,059		
	антиепілептична	0,434	0,113		
	агоніст рецепторів ГАМК	0,393	0,021		
	агоніст лейкотриєнів	0,348	0,043		
2	антагоніст рецептора ГАМК _A	0,591	0,036	2,71	269,299
	антиневропатична	0,605	0,057		
	антиастматична	0,572	0,055		
	анальгезія неопіоїдна	0,491	0,048		
	інгібітор агрегації тромбоцитів	0,503	0,018		
	антагоніст тромбоксану В ₂	0,444	0,084		
	седативна	0,465	0,051		
	антидепресантна	0,427	0,051		
	агоніст рецепторів ГАМК	0,397	0,021		
	анальгезивна	0,379	0,084		
	антиепілептична	0,349	0,171		
3	антагоніст рецептора ГАМК _A	0,582	0,039	3,05	283,325
	антиастматична	0,574	0,055		
	седативна	0,514	0,037		
	інгібітор агрегації тромбоцитів	0,494	0,019		
	анальгезія неопіоїдна	0,503	0,045		
	антиневропатична	0,501	0,085		
	антагоніст тромбоксану В ₂	0,458	0,071		
	агоніст рецепторів ГАМК	0,446	0,097		
	анальгезивна	0,403	0,072		
	антидепресантна	0,373	0,070		
	антирадикальна	0,342	0,076		
4	антиастматична	0,614	0,045	3,54	297,351
	антагоніст рецептора ГАМК _A	0,545	0,050		
	седативна	0,508	0,039		
	інгібітор агрегації тромбоцитів	0,505	0,018		
	анальгезія неопіоїдна	0,509	0,043		
	антиневропатична	0,478	0,092		
	антагоніст тромбоксану В ₂	0,427	0,103		
	анальгезивна	0,379	0,084		
	агоніст рецепторів ГАМК	0,374	0,025		
	антидепресантна	0,365	0,073		
	антирадикальна	0,348	0,073		
5	антагоніст рецептора ГАМК _A	0,544	0,050	3,37	297,351
	антиастматична	0,478	0,088		
	седативна	0,437	0,062		
	інгібітор агрегації тромбоцитів	0,414	0,032		
	анальгезія неопіоїдна	0,451	0,064		
	антиневропатична	0,422	0,115		
	антагоніст тромбоксану В ₂	0,418	0,116		
	агоніст рецепторів ГАМК	0,384	0,023		
	анальгезивна	0,343	0,107		
	антидепресантна	0,325	0,088		
	антирадикальна	0,348	0,073		
6	антагоніст рецептора ГАМК _A	0,619	0,029	4,37	331,368
	антиастматична	0,566	0,057		
	седативна	0,498	0,041		
	інгібітор агрегації тромбоцитів	0,453	0,024		
	анальгезія неопіоїдна	0,611	0,025		

6	антиневропатична	0,569	0,066		
	антагоніст тромбоксану B_2	0,460	0,069		
	анальгезивна	0,538	0,032		
	антидепресантна	0,415	0,054		
	антирадикальна	0,391	0,051		
	агоніст рецепторів ГАМК	0,364	0,028		
7	інгібітор тиразин фосфатази	0,783	0,019	2,74	253,256
	інгібітор агрегації тромбоцитів	0,787	0,007		
	антагоніст рецептора ГАМК _A	0,581	0,039		
	антиастматична	0,498	0,080		
	седативна	0,319	0,130		
	агоніст рецепторів ГАМК	0,394	0,021		
	аналгезія неопіоїдна	0,595	0,027		
	антиневропатична	0,397	0,128		
	антагоніст тромбоксану B_2	0,466	0,064		
	анальгезивна	0,310	0,133		
	антиалергічна	0,446	0,050		
	антирадикальна	0,357	0,067		
8	аналгезія неопіоїдна	0,881	0,007	4,24	275,305
	антагоніст рецептора ГАМК _A	0,813	0,005		
	антиепілептична	0,551	0,057		
	агоніст кальцієвих каналів	0,475	0,056		
	анальгезивна	0,696	0,009		
	агоніст рецепторів ГАМК	0,571	0,020		
	інгібітор ц-АМФ фосфодіестерази	0,476	0,036		
	антагоніст тромбоксану B_2	0,501	0,041		
	інгібітор ц-ГМФ фосфодіестерази	0,390	0,062		
	інгібітор гістамін N-метилтрансферази	0,554	0,054		
	антидепресантна	0,564	0,028		
	антиастматична	0,440	0,104		
9	аналгезія неопіоїдна	0,770	0,008		304,303
	антагоніст рецептора ГАМКА	0,745	0,007		
	агоніст кальцієвих каналів	0,536	0,031		
	інгібітор ц-ГМФ фосфодіестерази	0,503	0,033		
	антиепілептична	0,519	0,072		
	інгібітор ц-АМФ фосфодіестерази	0,407	0,060		
	антагоніст тромбоксану B_2	0,503	0,040		
	анальгезивна	0,529	0,034		
	інгібітор гістамін N-метилтрансферази	0,445	0,117		
	агоніст рецепторів ГАМК	0,379	0,026		
10	аналгезія неопіоїдна	0,748	0,010		304,303
	антагоніст рецептора ГАМК _A	0,733	0,008		
	антиепілептична	0,508	0,078		
	агоніст кальцієвих каналів	0,545	0,029		
	інгібітор ц-ГМФ фосфодіестерази	0,471	0,040		
	антагоніст тромбоксану B_2	0,510	0,036		
	інгібітор ц-АМФ фосфодіестерази	0,400	0,063		
	інгібітор гістамін N-метилтрансферази	0,510	0,078		
	анальгезивна	0,489	0,044		
	агоніст рецепторів ГАМК	0,377	0,027		
11	аналгезія неопіоїдна	0,816	0,007	3,85	259,305
	антагоніст рецептора ГАМК _A	0,761	0,007		
	інгібітор ц-ГМФ фосфодіестерази	0,541	0,025		
	агоніст рецепторів ГАМК	0,535	0,033		
	антиастматична	0,457	0,097		
	інгібітор ц-АМФ фосфодіестерази	0,451	0,044		
	антагоніст тромбоксану B_2	0,572	0,018		
	анальгезивна	0,628	0,016		
12	антирадикальна	0,412	0,044	4,80	293,750
	аналгезія неопіоїдна	0,857	0,007		
	антагоніст рецептора ГАМК _A	0,800	0,005		

12	антиепілептична	0,677	0,030	5,07	338,201
	агоніст рецепторів ГАМК	0,592	0,015		
	інгібітор ц-ГМФ фосфодіестерази	0,454	0,044		
	агоніст кальцієвих каналів	0,429	0,085		
	інгібітор ц-АМФ фосфодіестерази	0,438	0,048		
	антагоніст тромбоксану В ₂	0,409	0,128		
	анальгезивна	0,659	0,014		
	інгібітор гістамін N-метилтрансферази	0,582	0,041		
	антидепресантна	0,562	0,028		
	антиконвульсантна	0,504	0,044		
	антагоніст кальмодуліна	0,477	0,119		
	седативна	0,424	0,068		
	антирадикальна	0,380	0,056		
13	анальгезія неопіодна	0,846	0,007	3,40	299,330
	антагоніст рецептора ГАМК _A	0,757	0,007		
	інгібітор гістамін N-метилтрансферази	0,693	0,010		
	антиневропатична	0,673	0,040		
	антиепілептична	0,561	0,053		
	інгібітор ц-АМФ фосфодіестерази	0,396	0,064		
	агоніст рецепторів ГАМК	0,478	0,062		
	антагоніст тромбоксану В ₂	0,409	0,128		
	анальгезивна	0,646	0,015		
	антидепресантна	0,441	0,048		
	антиконвульсантна	0,532	0,036		
	антагоніст інтерлейкінів	0,559	0,036		
	седативна	0,391	0,087		
14	антагоніст рецептора ГАМК _A	0,753	0,007	3,40	299,330
	анальгезія неопіодна	0,600	0,026		
	антиепілептична	0,472	0,094		
	інгібітор гістамін N-метилтрансферази	0,478	0,096		
	антиневропатична	0,467	0,096		
	інгібітор ц-ГМФ фосфодіестерази	0,469	0,041		
	антагоніст тромбоксану В ₂	0,453	0,076		
	агоніст рецепторів ГАМК	0,397	0,021		
	анальгезивна	0,367	0,091		
	агоніст кальцієвих каналів	0,585	0,022		
	антидепресантна	0,337	0,083		
	антагоніст інтерлейкінів	0,461	0,096		

ЛІТЕРАТУРА

1. Альберт А., Сергент Е. Константы ионизации кислот и оснований. – М.: Химия, 1964. – 179 с.
2. Гацра В.В. Методы первичного фармакологического исследования физиологически активных веществ. – М.: Медицина, 1974. – 143 с.
3. Георгіянц В.А. Особливості протисудомної дії та їх залежність від молекулярної будови N, N¹-дибензиламідів бензиліденмалонових кислот // Клін. фармація. – 2003. – 7, № 2. – С. 59-65.
4. Волянський А.Ю. Кібернетичні аспекти цілеспрямованого пошуку нових антимікробних засобів // Клін. фармація. – 1997. – 1, № 1. – С. 79-85.
5. Волянський А.Ю. Токсикологічна характеристика метинових похідних хінолінію // Вісник фармації. – 1997. – 2, № 16. – С. 114-116.

6. Волянський А.Ю. Протимікробна дія метинових похідних хінолінію та математичне моделювання процесу скринінгу біологічно активних речовин: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 03.00.07 / Нац. мед. ун-т ім. О.О. Богомольця. – К., 2001. – 19 с.
7. Омелянчик Л.О. Прогнозування можливих видів біологічної дії серед N- і S-заміщених хіноліну // Актуальні питання фарм. та мед. науки і практики: Зб. наук ст. – Запоріжжя: ЗДМУ, 2000. – Вип. 6. – С. 145-148.
8. Омелянчик Л.О., Новосад Н.В. Прогнозування можливих видів біологічної активності в рядах S- та N-похідних акридину // Ліки. – 1998. – № 1. – С. 60-61.
9. Химия и биологическая активность синте-

тических и природных соединений. Азотистые гетероциклы и алкалоиды / Под ред. В.Г. Карцева, Г.А. Толстикова. – М.: Иридиум-пресс, 2001. – 1. – 602 с.

10. Lipinski C.A., Lombardo F., Dominy B.W., Feeney P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery

and development settings // Adv. Drug Delivery Rev. – 1997. – **23**, № 1-3. – P. 3-25.

11. Doman T.N., McGovern S.L., Witherbee B.J. et al. Molecular docking and high-throughput screening for novel inhibitors of protein tyrosine phosphatase-1B // J. Med. Chem. – 2002. – **45**, № 9. – P. 2213-2221.

КОМПЬЮТЕРНОЕ ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ВОЗМОЖНЫХ ВИДОВ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ 1,2,4-ТРИАЗОЛО[4,3-А]ХИНОЛИНОВ

Д.С. Коваленко, Л.А. Омелянчик, А.А. Бражко
ЗАПОРІЖСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Резюме

Проведено комп'ютерне прогнозування можливих видів біологічної активності середі 1,2,4-тріазоло[4,3-а]хінолінов. Прогнозується широкий спектр біологічної активності досліджуваних сполучень і виявляється залежність "структура-діяльність" між фізико-хімічними властивостями сполучень і їх біологічним дією.

КЛЮЧЕВІ СЛОВА: комп'ютерний прогноз, 1,2,4-тріазоло[4,3-а]хіноліни, анальгезія, ліпофільність, залежність "структура-діяльність".

COMPUTER FORECASTING OF POSSIBLE KINDS OF BIOLOGICAL ACTIVITY 1,2,4-TRIAZOLO[4,3-A]QUINOLINES

D.S. Kovalenko, L.O. Omeljanchik, O.A. Brazhko
THE ZAPORIZHZHYA NATIONAL UNIVERSITY

Summary

Computer forecasting of possible kinds of biological activity among 1,2,4-triazolo[4,3-a]quinolines was carried out. It was shown, that to the investigated compounds the wide spectrum of biological activity was predicted, and also dependence "structure-action" between physical and chemical properties of connections and their biological action was found.

KEY WORDS: the computer forecast, 1,2,4- triazolo[4,3-a]quinolines, analgezy, lipophily, dependence "structure-action".

Отримано 01.11.2005 р.

Адреса для листування: Д.С. Коваленко, Запорізький національний університет, вул. Жуковського, 66, Запоріжжя, МСП-41, 69600, Україна.

ДОСЛІДЖЕННЯ ВУГЛЕВОДНИХ ДЕТЕРМІНАНТ ГЛІКОПРОТЕЇНОВИХ РЕЦЕПТОРІВ НЕЙТРОФІЛЬНИХ ГРАНУЛОЦИТІВ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 1-ГО ТИПУ

Н.О. Сибірна¹, М.Л. Барська², І.В. Бродяк¹
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І. ФРАНКА¹
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ КЛІТИНИ НАН УКРАЇНИ², ЛЬВІВ

Показники лектиноцитохімічного аналізу та лектиніндукованої агрегації нейтрофільних гранулоцитів крові дозволили встановити перерозподіл складу глікокон'югатів на плазматичній мембрані цих клітин у хворих на цукровий діабет 1-го типу. Дослідження структурно-функціонального стану рецепторного апарату нейтрофілів з використанням лектинів є перспективним напрямком для з'ясування патогенезу цукрового діабету 1-го типу та розробки способів профілактики ускладнень цього захворювання.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: нейтрофільні гранулоцити, лектини, глікопротеїнові рецептори, цукровий діабет 1-го типу.

ВСТУП. Перебіг цукрового діабету (ЦД) 1-го типу ускладнюється розвитком діабетичних ангіопатій, які зумовлюють інвалідизацію пацієнтів. Особлива роль у розвитку судинних ускладнень відводиться морфо-функціональному стану нейтрофільних гранулоцитів (НГ). Преактивація цих ефektorних клітин призводить до зостання кількості екстрацелюлярних патологічних процесів, які руйнують весь організм хворого [1]. Механізм пошкодження ендотелію судин НГ остаточно не з'ясовано. Відомо, що взаємодію між лейкоцитами та ендотеліоцитами забезпечують три суперродини адгезивних молекул: інтегрини, селектини, імуноглобуліни. β_2 -інтегрини та L-, P-, E-селектини лейкоцитів беруть участь в адгезії циркулюючих клітин до ендотелію. Особливо ця функція посилюється при запальних процесах. Селектини та імуноглобуліни на ендотелії служать лігандами (контррецепторами) для лейкоцитарних рецепторів. Більшість адгезивних молекул входить до складу мембранних рецепторів НГ і за хімічною структурою є глікопротеїнами [5, 7]. Активація НГ безпосередньо пов'язана з рецепторним апаратом плазматичної мембрани. Інтерналізація, експресія або маскування тих чи інших рецепторів істотно впливає на функціональну активність даних клітин [8]. Для дослідження стану поверхневих рецепторів різноманітних клітин у нормі та за

умов патології як структурні та функціональні молекулярні зонди застосовують лектини.

Лектини – речовини білкової природи, основною властивістю яких є специфічне зв'язування з вуглеводними детермінантами тканинних і клітинних глікокон'югат без зміни хімічної структури останніх. Як структурні зонди лектини дають можливість отримати інформацію про хімічну природу, розподіл та кількість вуглеводних детермінант глікопротеїнових рецепторів клітинної мембрани, комплементарних даному лектину, та про константи асоціації (дисоціації) комплексу "лектин-рецептор". Як функціональні зонди лектини дають інформацію про рухливість мембранних рецепторів, стан примембранних скоротливих структур, взаємодію з рецепторами гормонів, внутрішньоклітинні процеси, які відбуваються після взаємодії рецептора з лігандом. Лектин-рецепторне впізнавання *in vivo* може забезпечувати специфічні властивості адгезивних молекул НГ та ендотеліоцитів під час міжклітинних взаємодій [6, 11].

Метою нашої роботи було вивчення стану вуглеводних детермінант глікопротеїнових рецепторів клітинної мембрани НГ за умов ЦД 1-го типу із застосуванням лектинів як структурно-функціональних зондів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 12 хворих на ЦД 1-го типу віком від 24 до 55 років (з них 4 жінки і 8 чоловіків), а також 14 здорових

донорів (контрольна група) віком від 21 до 35 років (6 жінок і 8 чоловіків). У дослідах використовували гепаринізовану кров (кінцеве розведення гепарин:цільна кров=1:100).

НГ виділяли у градієнті густини Gradisol-G ("Aqua-medica", Польща) згідно з інструкцією фірми-виробника. Після центрифугування клітини двічі відмивали в забуференому фізіологічному розчині (ЗФР, рН=7,4). Життєздатність клітин у тесті із трипановим синім була не меншою 98 %.

Для лектиноцитохімічного дослідження [6] із суспензії НГ виготовляли мазки, які фіксували сумішшю "ацетон:метанол:формалін" у співвідношенні 19:19:2 протягом 5 хв при температурі +4 °С з наступним висушуванням при кімнатній температурі. З метою пригнічення активності ендогенної пероксидази після регідратії та промивання ЗФР мазки обробляли 70 % метанолом, що містив 5 % H_2O_2 . Далі промивали в 3-х змінах ЗФР по 5 хв. Проводили інкубацію з розчиненими в ЗФР лектинами (RCA – лектин рицини, WGA – лектин зародків пшениці, SBA – лектин сої, LCL – лектин сочевиці), міченими пероксидазою хрому ("Лектинотест", Україна) у концентрації 50 мкг/мл. Після 2-х годин інкубації при кімнатній температурі проводили відмивання скелець у 3-х змінах ЗФР по 10 хв. Для негативного контролю мазки в одному випадку інкубували без лектину (в ЗФР), у другому – в присутності 0,5 М відповідного вуглеводу-інгібітора (для RCA – моногідрат D-галактози, для WGA – N-ацетил- β ,D-глюкозамін, для SBA – пентагідрат рафінози, для LCL – α -метил-D-манопіранозид), у третьому – з 1 % розчином H_2O_4 у ЗФР протягом 30 хв перед нанесенням лектину. Для виявлення в клітинах місць зв'язування міченого пероксидазою лектину використовували 0,05 % розчин 3,3-діамінобензидину тетрагідрохлориду і 0,015 % H_2O_2 на ЗФР, інкубацію проводили 3-

5 хв при кімнатній температурі з наступним відмиванням скелець у 3-х змінах дистильованої води по 5 хв. Активність пероксидазної реакції і, відповідно, локалізацію зв'язаного з глікокон'югатами лектину визначали за коричневими відкладеннями продуктів окисної полімеризації діамінобензидину в режимі світлової мікроскопії при збільшенні $\times 1200$ під імерсійною олією. Інтенсивність зв'язування лектину оцінювали за шкалою +++, ++, +, 0. Для визначення середньої кількості клітин з позитивною пероксидазною реакцією підраховували суму клітин з інтенсивністю реакції +++, ++, +; всього рахували 200 клітин на мазку.

Агрегацію НГ визначали стандартним турбідиметричним методом за допомогою двоканального лазерного аналізатора агрегації "230 LA Биола" ("НПФ Биола", Росія) у суспензії відмитих нейтрофілів – $2,5 \cdot 10^6$ клітин в 1 мл при 37 °С і перемішуванні із швидкістю 800 об./хв за зміною світлопропускання [1].

Як індуктори агрегації використовували RCA, WGA, SBA та LCL. Усі лектини люб'язно надані доктором біологічних наук М.Д. Луциком (Інститут біології клітини НАН України, м. Львів).

При дослідженні агрегації до 300 мкл суспензії НГ після термостатування протягом 1 хв при 37 °С додавали 10 мкл розчину лектину в концентрації 32 мкг/мл. Процес агрегації реєстрували протягом 12-15 хв за зміною показника світлопропускання.

Показники агрегації визначали за агрегаційною кривою. Ступінь агрегації визначали як максимальний приріст світлопропускання після додавання індуктора і виражали у відсотках. Швидкість агрегації визначали як максимальний нахил кривої світлопропускання після додавання індуктора і виражали у відсотках за 1 хв. [3, 4]. Отримані результати обробляли статистично з використанням t-критерію Стьюдента.

Таблиця 1 – Взаємодія лектинів із вуглеводними детермінантами поверхневих рецепторів нейтрофільних гранулоцитів у здорових донорів та хворих на цукровий діабет 1-го типу ($M \pm m$; $n=12-14$)

Показники		Середня кількість клітин з позитивною пероксидазною реакцією	Вуглеводна детермінанта, що виявляється лектином
RCA	Контроль	195,1 \pm 6,3	β ,D-галактоза
	Цукровий діабет	177,3 \pm 5,7*	
WGA	Контроль	148,7 \pm 2,7	N-ацетил- β ,D-глюкозамін, N-ацетилнейрамінова (сіалова) кислота
	Цукровий діабет	172,9 \pm 3,1*	
SBA	Контроль	146,4 \pm 4,1	N-ацетил- α ,D-галактозамін
	Цукровий діабет	134,7 \pm 3,5*	
LCL	Контроль	115,2 \pm 4,3	α ,D-маноза, α ,D-глюкоза
	Цукровий діабет	129,6 \pm 4,9*	

Примітка. Тут і далі: * – вірогідність відмінностей порівняно з показниками в контролі, $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Дані лектиноцитохімічного аналізу карбогідратів НГ в осіб контрольної групи та у хворих на ЦД 1-го типу наведено в таблиці 1 та на рисунку 1. За інтенсивністю зв'язування з мембраною НГ лектини можна розподілити в такій послідовності: RCA, WGA, SBA, LCL. У всіх випадках виявлено статистично вірогідну різницю між середньою кількістю НГ з позитивною пероксидазною реакцією в групах порівняння.

За даними лектиноцитохімічного аналізу та лектиніндукованої агрегації, встановлено пряму

відповідність між зв'язуванням лектинів з мембраною НГ і їх індукуючою здатністю для RCA, SBA та WGA. Чим вищою була інтенсивність зв'язування лектинів з поверхнею фіксованих на мазку клітин, тим більшими були показники ступеня та швидкості агрегації в суспензії НГ (див. табл. 1, рис. 2).

Зменшення кількості НГ, які несуть рецептори до RCA та SBA за умови патології, свідчить про зниження кількості вуглеводних детермінант, комплементарних до цих лектинів. Відомо, що поверхневі глікопротеїни з термінальними залишками β ,D-галактози необхідні

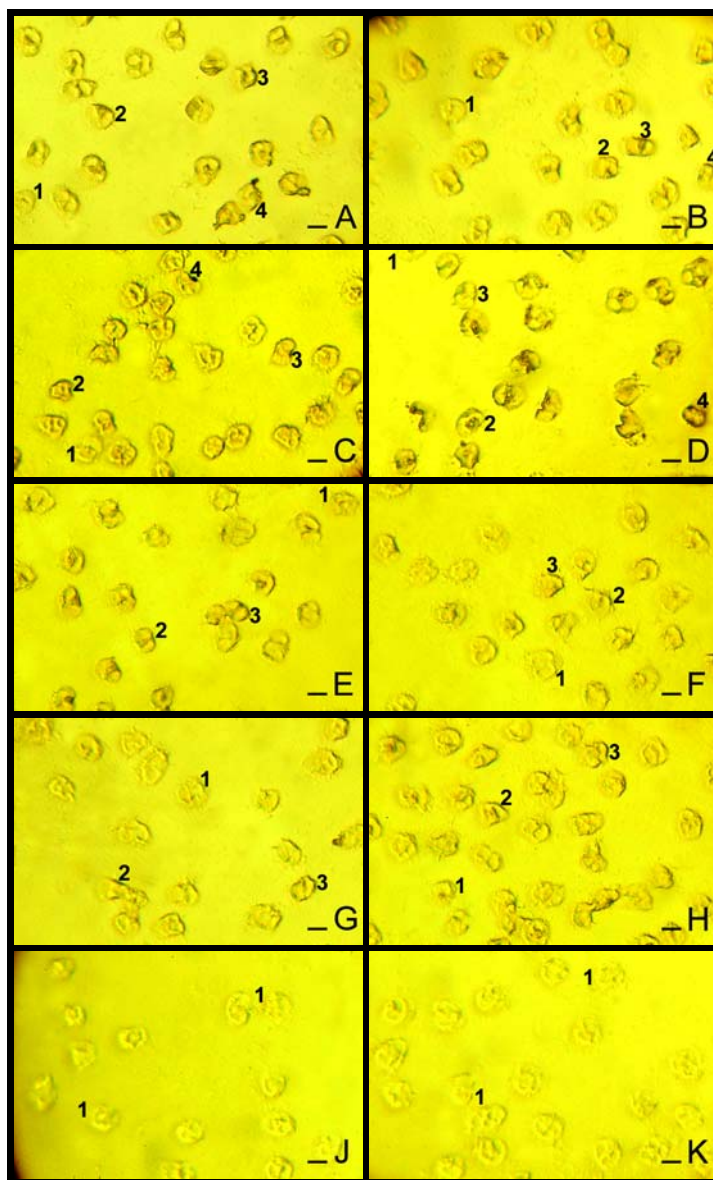


Рис. 1. Лектиноцитохімічний аналіз нейтрофільних гранулоцитів крові здорових донорів (ЗД) та хворих на ЦД 1-го типу. Інкубація з лектинами, міченими пероксидазою хрому, візуалізація в системі "діамінобензидин- H_2O_2 ". Обробка RCA: А – ЗД; В – ЦД. Обробка WGA: С – ЗД; D – ЦД. Обробка SBA: Е – ЗД; F – ЦД. Обробка LCL: G – ЗД; H – ЦД. Негативні контролі: J – без обробки лектинами, K – з преобробкою H_2O_4 . Цифрові позначення інтенсивності пероксидазної реакції: 1 – негативна реакція (0); 2 – слабка позитивна реакція (+); 3 – позитивна реакція (++); 4 – сильна позитивна реакція (+++). $\times 600$, var=10 мкм.

для міжклітинної взаємодії при елімінації дефектних НГ системою мононуклеарних фагоцитів. Вони також задіяні в молекулярних механізмах адгезії НГ із чужорідними антигенами під час здійснення фагоцитозу [6]. Тому зменшення кількості β ,D-галактозовмісних глікопротеїнових рецепторів на поверхні НГ може спричиняти як недостатню елімінацію НГ макрофагами, так і пригнічення фагоцитарної функції власне нейтрофілів за їх участі у неспецифічній імунній відповіді при ЦД 1-го типу. Відомо, що зменшення рівня експресії N-ацетил- β ,D-галактозаміновмісних глікокон'югатів на поверхні клітин свідчить про прискорення проліферації та диференціації НГ [10]. Отже, дані, отримані нами при дослідженнях із застосуванням SBA, дозволяють зробити припущення про пришвидшене дозрівання і/або старіння НГ за умов патології.

У хворих спостерігається підвищення кількості НГ з позитивною пероксидазною реакцією на мазках, інкубованих з LCL, що вказує на зростання вмісту α ,D-манозних і α ,D-глюкозних вуглеводних детермінант у складі мембранних рецепторів НГ (див. табл. 1, рис. 1). За даними літератури, лектин PSL (лектин гороху), який має аналогічну з LCL вуглеводну специфічність, інтенсивніше зв'язується з глікозидними детермінантами на поверхні апоптичних клітин [12]. Результати лектиноцитохімічного дослідження впливу LCL на НГ у нормі та за умов патології дозволяють говорити

про активацію апоптозу нейтрофілів при ЦД 1-го типу, що підтверджує попереднє припущення про прискорене старіння НГ у хворих та узгоджується з нашими даними, отриманими раніше [2]. Знижені показники агрегаційної здатності НГ при індукції лектином LCL можна пояснити тим, що пряме зв'язування цього лектину з мембранними рецепторами є недостатньою умовою для ініціації агрегації. Ефективність лектиніндукованої агрегації клітин визначається процесами кластеризації рецепторів до лектинів на їх поверхні: чим більший ступінь кластеризації мембранних рецепторів, тим вища інтенсивність агрегації. Пригнічення кластеризації відбувається під впливом метаболічних інгібіторів, сульфгідрильних реагентів, а також при відсутності кисню в середовищі [9]. Інгібування перегрупування мембранних рецепторів НГ, імовірно, провокується гіпоксією, яка розвивається при ЦД 1-го типу.

Найвиразніша динаміка змін у бік збільшення показників лектиноцитохімічного аналізу та лектиніндукованої агрегації за ЦД 1-го типу спостерігалась при використанні лектину WGA (див. табл. 1, рис. 1 та 2). До WGA-зв'язувальних глікопротеїнів відносять N-форміл-метіоніл-лейцил-фенілаланін, C_{5a} -компонент системи комплементу, ІЛ-8, рецептор гранулоцитарно-моноцитарного колонієстимулювального фактора (GM-CSF-рецептор), клітинний рецептор 3 (Mac-1). Саме через рецептор Mac-1 відбувається взаємодія НГ з молекулою міжклітинної

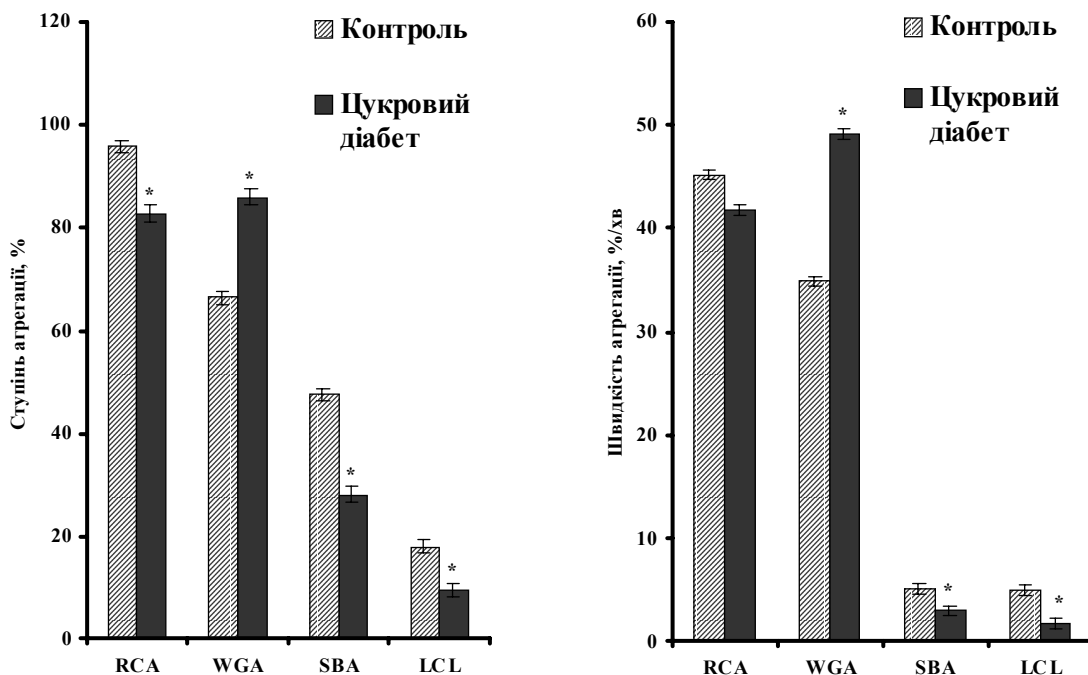


Рис 2. Показники лектиніндукованої агрегації нейтрофільних гранулоцитів у здорових донорів та у хворих на цукровий діабет 1-го типу ($M \pm m$; $n=12-14$).

адгезії 1 (ICAM-1, CD 54), яка бере участь в адгезії лейкоцитів до ендотелію судин у стані запалення [5, 7, 14]. З іншого боку, відомо, що через WGA-специфічні рецептори відбувається стимуляція респіраторного вибуху в НГ шляхом активації NADPH-оксидази з наступним утворенням активних форм кисню [13, 14]. Отримані нами дані свідчать про підвищення вмісту N-ацетил- β ,D-глюкозаміну та N-ацетилнейрамінової (сілової) кислоти в складі рецепторів плазматичної мембрани НГ у пацієнтів з ЦД 1-го типу. Це може бути однією з основних причин неспецифічного ушкодження тканин та клітин, що знаходяться у безпосередній близькості із стимульованими нейтрофілами, які починають гіперпродукцію активних форм кисню. За таких умов НГ викликають загибель еритроцитів (етіологічна основа розвитку анемії), змінюють морфо-функціональний стан тромбоцитів та ендотеліоцитів (провокація тромбоемболічних ускладнень), фібробластів, інактивують ферменти, призводять до змін у

структурі білків, стимулюють процеси окиснення ліпідів.

ВИСНОВКИ. 1. За результатами лектиноцитохімічного дослідження НГ у хворих на ЦД 1-го типу встановлено зростання кількості клітин, які в структурі рецепторів плазматичної мембрани мають вуглеводні детермінанти, комплементарні до WGA та LCL, і зменшення кількості клітин з рецепторами до RCA та SBA.

2. За умов ЦД 1-го типу відбувається зміна розподілу та кількості глікопротеїнових рецепторів НГ, що призводить до підсилення (при дії WGA) або пригнічення (під впливом RCA, SBA, LCL) процесу агрегації нейтрофілів.

3. Перерозподіл вмісту глікокон'югат на плазматичній мембрані НГ крові за умов ЦД 1-го типу може сприяти підвищеній адгезії нейтрофілів до ендотелію судин, порушенню їх фагоцитарної функції, що є причиною ускладнень клінічного перебігу цього захворювання.

ЛІТЕРАТУРА

1. Александровский Я.А. Молекулярные механизмы взаимодействия патологических процессов при совместном протекании сахарного диабета и рака. Научные и клинические аспекты // Биохимия. – 2002. – **67**, вып. 12. – С. 1611-1631.

2. Бродяк І.В., Барська М.Л., Сибірна Н.О. Апоптоз імункомпетентних клітин крові при цукровому діабеті 1 типу // Лаб. діагностика. – 2005. – № 2. – С. 22-25.

3. Воскобой И.В., Киричук В.Ф., Ребров А.П. Лектиноиндуцированная агрегация нейтрофильных гранулоцитов у больных нестабильной стенокардией // Клин. лаб. диагностика. – 2002. – № 6. – С. 23-34.

4. Габбасов З.А., Попов Е.Г., Гаврилов И.Ю. Новый высокочувствительный метод анализа агрегации тромбоцитов // Лаб. дело. – 1989. – № 10. – С. 15-18.

5. Козинец Г.И., Высоцкий В.В., Погорелов В.М. и др. Кровь и инфекция. – М.: Триада-фарм, 2001. – 456 с.

6. Луцик А.Д., Детюк Е.С., Луцик М.Д. Лектины в гистохимии / Под ред. Е.Н. Панасюка. – Львов: Изд-во при ЛГУ, 1989. – С. 5-77.

7. Пальцев М.А., Иванов А.А. Межклеточные взаимодействия. – М.: Медицина, 1995. – 490 с.

8. Сибірна Н.О., Барська М.Л. Функціональний

стан нейтрофілів при цукровому діабеті 1 типу // Лаб. діагностика. – 2003. – № 2. – С. 33-37.

9. Тимошенко А.В., Черенкевич С.Н. Индуцированная агрегация клеток // Укр. біохім. журн. – 1991. – **63**, № 6. – С. 3-14.

10. Хомерики С.Г., Кубатиев А.А., Шляпников В.Н. Лектиноиндуцированная агрегация нейтрофильных гранулоцитов до и после облучения крови гелий-неоновым лазером // Гематология и трансфузиология. – 1993. – **38**, № 7. – С. 26-28.

11. Хомутовский О.А., Луцик М.Д., Передерей О.Ф. и др. Исследование рецепторов на поверхности клеток лимфоидных линий с помощью лектинов // Эксперим. онкология. – 1986. – **8**, № 5. – С. 25-28.

12. Bilyy R.O., Antonyuk V.O., Stoika R.S. Cytochemical study of role of α ,D-mannose and β ,D-galactose-containing glycoproteins in apoptosis // J. Mol. Histology. – 2004. – № 35. – P. 829-838.

13. Caimi G., Montana M., Citarrela R. Polymorphonuclear leukocyte integrin profile in diabetes mellitus // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2002. – **27**, № 2. – P. 83-89.

14. Karlsson A. Wheat Germ Agglutinin induces NADPH-oxidase activity in human neutrophils by interaction with mobilizable receptors // Infect. Immunity. – 1999. – **67**, № 7. – P. 3461-3468.

ИССЛЕДОВАНИЕ УГЛЕВОДНЫХ ДЕТЕРМИНАНТ ГЛИКОПРОТЕИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1-ГО ТИПА

Н.А. Сибирная¹, М.Л. Барская², И.В. Бродяк¹
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И. ФРАНКО¹
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ КЛЕТКИ НАН УКРАИНЫ², ЛЬВОВ

Резюме

Показатели лектиноцитохимического анализа и лектининдуцированной агрегации нейтрофильных гранулоцитов крови позволили установить перераспределение состава гликоконъюгатов на плазматической мембране этих клеток у больных сахарным диабетом 1-го типа. Исследование структурно-функционального состояния рецепторного аппарата нейтрофилов с использованием лектинов является перспективным направлением для выяснения патогенеза сахарного диабета 1-го типа и разработки способов профилактики осложнений этого заболевания.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: нейтрофильные гранулоциты, лектины, гликопротеиновые рецепторы, сахарный диабет 1-го типа.

STUDY OF CARBOHYDRATE DETERMINANTS OF GLYCOPROTEIN RECEPTORS OF NEUTROPHIL GRANULOCYTES IN PATIENTS WITH TYPE 1 DIABETES MELLITUS

N.O. Sybirna¹, M.L. Barska², I.V. Brodyak¹
LVIV NATIONAL UNIVERSITY BY IVAN FRANKO¹
INSTITUTE OF CELL BIOLOGY, NAS OF UKRAINE 2, LVIV

Summary

Parameters of lectinocytochemical analysis and lectin-induced aggregation of neutrophil granulocytes allowed to determine redistribution of glycoconjugate composition on plasmatic membrane of these cells in patients with type 1 diabetes mellitus. Investigation of structural and functional state of neutrophil receptor apparatus with using lectins is a perspective way in elucidating the type 1 diabetes mellitus pathogenesis and finding the methods of prophylaxis of illness complications.

KEY WORDS: neutrophilic granulocytes, lectins, glycoprotein receptors, type 1 diabetes mellitus.

Отримано 12.09.2005 р.

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

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

КОРЕКЦІЯ ПОВЕДІНКОВИХ РЕАКЦІЙ ЩУРІВ, ЯКІ ПІДДАВАЛИСЬ ХРОНІЧНОМУ СТРЕСУ, ПОХІДНИМИ ХІНАЗОЛІНУ (ПК-66), ЕМОКСИПІНОМ ТА СЕМАКСОМ

І.Ф. Беленічев, С.В. Павлов, С.І. Коваленко, К.П. Шабельник
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Показано, що хронічний іммобілізаційний стрес (ХІС) призводить до розвитку когнітивного дефіциту, що проявляється зниженням рухової активності й порушенням процесів навчання і пам'яті. Введення експериментальним тваринам ПК-66 у дозі 10 мг/кг, емоксипіну – 100 мг/кг, семаксу – 300 мг/кг допомагає відновити процеси навчання і пам'яті, а також збільшити рухову активність. ПК-66 в умовах моделювання ХІС за своїм впливом на процеси навчання та пам'яті достовірно перевищував семакс і емоксипін, його ефект збігався з ефектом семаксу за орієнтовно-дослідницькою поведінкою.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: хронічний іммобілізаційний стрес, навчання, пам'ять, орієнтовно-дослідницька поведінка, похідні хіназоліну.

ВСТУП. Одним з найбільш цікавих і, разом з тим, одним з найскладніших завдань сучасної медицини є вивчення фармакологічної корекції патологічних процесів, в основі розвитку яких лежить стрес. Стрес має важливе значення в етіогенезі більшості захворювань серцево-судинної, центральної та ендокринної систем. Відомо [3, 4, 5], що в основі виникнення і розвитку стресу провідна роль належить окисним реакціям, які призводять до збільшення концентрації активних форм кисню (АФК) і стимуляції процесів вільнорадикального окиснення (ВРО). АФК за умов антиоксидантної недостатності ушкоджують білки, ліпіди, ДНК, мембрани та інші органели нейрона, окисно модифікуючи їх, що надалі може викликати розвиток когнітивного дефіциту [1, 7, 12]. За даних порушень особливої уваги заслуговують церебропротектори з антиоксидантним механізмом дії, пошук яких на сьогодні ведуть серед різних класів сполук, і, що важливо, їх структурі необхідно є наявність пептидних аналогів специфічних сайтів нейрональних рецепторів [2]. З огляду на це, перспективним напрямком також є створення препаратів із зазначеним механізмом дії серед похідних хіназоліну, які б мали у молекулі залишки фрагментів амінокислот. Крім того, у ході попередньо проведених досліджень серед амідів (4-оксо-4Н-

© І.Ф. Беленічев, С.В. Павлов, С.І. Коваленко, К.П. Шабельник, 2006.

хіназолін-3-іл)алкіл(арил)карбонових сполук у дослідях *in vitro* та *in vivo* нами була виявлена сполука ПК-66, яка проявляє високу антиоксидантну і церебропротективну активність [8, 9, 11].

Метою даної роботи було вивчення впливу сполуки ПК-66, емоксипіну та семаксу на процеси навчання і пам'яті, а також на орієнтовно-дослідницьку поведінку щурів за умов хронічного іммобілізаційного стресу (ХІС).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження виконано на 50 статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 200-250 г, одержаних з розплідника ІФТ АМН України. Хронічний стрес викликали щоденною жорсткою 2-годинною іммобілізацією протягом 10 днів [10]. Досліджувані сполуки вводили щодня за 2 год до стресу в таких дозах: ПК-66 – 10 мг/кг, емоксипін – 100 мг/кг, семакс – 300 мк/кг. Щурам контрольної групи за 2 год до стресу вводили фізіологічний розчин об'ємом 2 мл. Досліджувані сполуки вводили експериментальним тваринам перорально (ПК-66) або внутрішньоочеревинно (семакс і емоксипін). Оцінку орієнтовно-дослідницької поведінки (ОДП) реєстрували на 2 добу після ХІС протягом 3 хв за горизонтальною, вертикальною і дослідницькою (обстеження "отворів" у підлозі) активністю. У ті ж терміни експерименту оцінювали здатність тварин до навчання і запам'ято-

ування аверсивного стимулу в тесті умовної реакції пасивного уникання (УРПУ) [6]. Статистичну обробку результатів експерименту проводили за допомогою програми "Biostat".

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Дослідження ОДП, а також процесів навчання і пам'яті в експериментальних тварин із ХІС показало наявність когнітивного дефіциту (табл. 1, 2). Дані зміни полягали у зниженні рухової та дослідницької активності в середньому на 48,8 і 94 % відповідно (див. табл. 1). При дослідженні впливу ПК-66, емоксипіну та семаксу на ОДП і рухову активність було встановлено, що всі речовини суттєво активували поведінку тварин і, безумовно, знижували розвиток когнітивного дефіциту. Збільшились усі показники поведінки: горизонтальних та вертикальних рухів, обстежень "отворів", дефекацій, замирань. Так, введення емоксипіну призвело до підвищення ОДП на 25 %, а ПК-66 і семаксу – в середньому на 71 % відносно контролю.

При вивченні процесів навчання і пам'яті на моделі УРПУ було виявлено статистично достовірне зниження латентного періоду заходу в темну камеру шурів контрольної групи на 65 % відносно інтактної групи тварин (див. табл. 2). Призначення ПК-66, емоксипіну і семаксу експериментальним тваринам до навчання призводило до значного збільшення латентного періоду заходу в темний відсік відносно контролю. Важливо відмітити, що ПК-

66 достовірно перевищував емоксипін і семакс на 67,6 і 10,3 % відповідно за латентним часом заходу в темний відсік.

Таким чином, введення ПК-66, емоксипіну, семаксу призводить до підвищення когнітивно-мнестичних функцій тварин із ХІС, збільшення рухової активності й латентного часу заходу в темну камеру. Аналізуючи дані, отримані при вивченні ОДП, можна зробити висновок, що найбільш активними сполуками були ПК-66 і семакс, а за здатністю попереджувати або послаблювати порушення процесів навчання і пам'яті найбільш активним є ПК-66, який достовірно перевищує емоксипін і семакс.

Церебропротективна дія сполуки ПК-66 пов'язана з його здатністю "вловлювати" АФК і вільні радикали як на ініціальних, так і на кінцевих етапах ВРО, а також гальмувати ОМБ. Дане ствердження цілком узгоджується з раніше проведеними дослідженнями [1, 8, 9, 11], де нами показано, що ПК-66 проявляє виражений антиоксидантний ефект, запобігає ОМБ у головному мозку як у дослідях *in vitro*, так і при моделюванні іммобілізаційного стресу. Крім цього, у дослідях *in vitro* було встановлено здатність ПК-66 інгібувати утворення АФК, зокрема супероксид- і пероксинітритрадикала [8].

Механізм церебропротективної дії емоксипіну, на нашу думку, обумовлений його позитивним впливом на компоненти антиоксидантного захисту (каталаза, супероксид-

Таблиця 1 – Вплив ПК-66, емоксипіну, семаксу на ОДП тварин (протягом 3 хв), які піддавались ХІС

Група тварин	Кількість горизонтальних рухів	Кількість вертикальних рухів	Кількість заглядань в "отвори"	Кількість дефекацій	Тривалість замирань
Інтактна	40,50±2,31	15,20±3,45	5,40±0,76	3,10±0,43	30,10±1,68
Контрольна	20,70±3,42	6,70±0,56	1,70±0,06	2,21±0,12	20,50±2,13
ХІС+ПК-66	35,50±2,56**	12,20±0,78**	3,80±0,31**	2,35±0,76	27,80±1,12*
ХІС+емоксипін	25,9±3,4*	10,0±1,2*	2,50±0,12*	2,14±0,45	22,40±2,31
ХІС+семакс	33,20±2,34**	11,30±0,68*	2,95±0,34**	2,46±0,32	26,60±1,78*

Примітка. * – $p < 0,05$ відносно контролю; ** – $p < 0,05$ відносно групи тварин, які одержували емоксипін.

Таблиця 2 – Вплив ПК-66, емоксипіну, семаксу на процеси навчання і пам'яті тварин, які піддавались ХІС

Група тварин	Латентний час заходу в темний відсік до навчання, с	Латентний час заходу в темний відсік через 24 год після навчання, с	% навчених тварин
Інтактна	6,80±2,51	197,0±5,8	100
Контрольна	10,5±6,4	69,0±5,1	34
ХІС+ПК-66	7,87±4,10**	171,0±9,8**	87**
ХІС+емоксипін	6,98±3,21*	102,0±7,6*	65*
ХІС+семакс	6,5±4,2*	155,0±6,8*	77*

Примітка. * – $p < 0,05$ відносно контролю; ** – $p < 0,05$ відносно групи тварин, які одержували емоксипін і семакс.

дисмутаза, глутатіонпероксидаза), а також його мембраностабілізуючою дією [2]. Церебропротективні ефекти семаксу пов'язані з його впливом на активність ацетилхолінергетичних процесів навчання і формування пам'яті. Крім цього, семакс у більших дозах (150-300 мг/кг), не володіючи токсичним ефектом та зберігаючи ноотропні властивості, проявляє виражену антиоксидантну, антигіпоксичну і нейротрофічну активність [2, 5].

Таким чином, досліджувані препарати впливають практично на всі деструктивні процеси у нейроні: інгібують утворення АФК; зменшують інтенсивність процесів окисної модифікації білка; збільшують активність ряду антиоксидантних ферментів, а також безпосередньо впливають на метаболічні процеси у нейроні, відновлюючи при цьому рецепторну, медіа-

торну, енергетичну та секреторну взаємодію і, тим самим, забезпечують церебропротективний ефект.

ВИСНОВКИ. 1. Хронічний іммобілізаційний стрес призводить до розвитку когнітивного дефіциту, знижує рухову активність і порушує процеси навчання і пам'яті.

1. Введення експериментальним тваринам ПК-66 у дозі 10 мг/кг, емоксипіну – 100 мг/кг, семаксу – 300 мг/кг призводить до відновлення процесів навчання і пам'яті та збільшення рухової активності.

2. ПК-66 в умовах моделювання хронічного іммобілізаційного стресу за своїм впливом на процеси навчання та пам'яті достовірно перевищував семакс і емоксипін, його ефект збігався з ефектом семаксу за орієнтовно-дослідницькою поведінкою.

ЛІТЕРАТУРА

1. Беленичев И.Ф., Павлов С.В. Роль окислительной модификации белков в когнитивно-мнестических нарушениях у крыс, подвергшихся острому иммобилизационному стрессу // Запорізь. мед. журн. – 2005. – № 3. – С. 125.

2. Воронина Т.А. Гипоксия и память. Особенности эффектов и применения ноотропных препаратов // Вестник РАМН. – 2000. – № 9. – С. 27-33.

3. Вьюшина А.В., Герасимова И.А., Флеров М.А. Перекисное окисление белков сыворотки крови у крыс, селектированных по скорости выработки условного рефлекса активного избегания, в норме и при стрессе // Бюл. эксперим. биол. и медиц. – 2002. – **133**, № 3. – С. 286-288.

4. Губский Ю.И., Беленичев И.Ф., Левицкий Е.Л. и др. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях // Совр. пробл. токсикол. – 2005. – № 3. – С. 20-26.

5. Гусев Е.И., Сиворцова В.И. Ишемия головного мозга. – М.: Медицина, 2001. – 328 с.

6. Дьюсбери Р. Изучение поведения животных. – М.: Наука, 1980. – 376 с.

7. Левицкий Е.Л., Марченко А.Н., Павлов С.В. и др. Токсические эффекты активных форм кислорода в условиях острого иммобилизационного стресса // Мат. тез. VI Міжнарод. наук.-практ. конф. "Актуальні

проблеми токсикології. Безпека життєдіяльності людини". – К., 2005. – С. 17-18.

8. Павлов С.В. Церебропротективная активность производных (4-оксо-4-Н-хиназолин-3-ил)алкил(арил)карбоновых кислот в условиях острого иммобилизационного стресса // Мат. тез. II наук.-практ. конф. молодых ученых та спеціалістів "Актуальні проблеми фармакології та токсикології". – К., 2005. – С. 45.

9. Павлов С.В., Шабельник К.П. Перспективы застосування похідних (4-оксо-4Н-хіназолін-3-ил)алкіл (аріл)карбонових кислот як антиоксидантів-церебропротекторів в умовах пренатального стресу // Мат. тез. студентської наук. конф. – Львів, 2005. – С. 93.

10. Стефанов А.В. Доклинические исследования лекарственных веществ. – К.: ДФЦ МОЗ Украины, 2000. – 540 с.

11. Шабельник К.П., Павлов С.В., Беленичев И.Ф. и др. Амиды (6-R-4-оксо-4Н-хиназолин-3-ил)-алкил(арил)карбоновых кислот – перспективные церебропротективные средства с антиоксидантным механизмом действия // Мат. VI Національного з'їзду фармацевтів України. – Харків, 2005. – С. 124.

12. Cooper J.R., Bloom F.E., Roth R.H. The Biochemical Basis of Neuropharmacology. – N. Y., 1996. – 526 p.

КОРРЕКЦИЯ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ КРЫС, ПОДВЕРГШИХСЯ ХРОНИЧЕСКОМУ СТРЕССУ, ПРОИЗВОДНЫМИ ХИНАЗОЛИНА (ПК-66), ЭМОКСИПИНОМ И СЕМАКСОМ

И.Ф. Беленичев, С.В. Павлов, С.И. Коваленко, К.П. Шабельник
ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Показано, что хронический иммобилизационный стресс (ХИС) приводит к развитию когнитивного дефицита, который выражается в снижении двигательной активности и нарушении процессов обучения и памяти. Введение экспериментальным животным ПК-66 в дозе 10 мг/кг, эмоксипина – 100 мг/кг, семакса – 300 мг/кг помогает восстановить процессы обучения и памяти, а также увеличить двигательную активность. ПК-66 в условиях моделирования ХИС по своему влиянию на процессы обучения и памяти достоверно превышал семакс и эмоксипин, его эффект был сопоставим с эффектом семакса по ориентировочно-исследовательскому поведению.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хронический иммобилизационный стресс, обучение, память, ориентировочно-исследовательское поведение, производные хиназолина.

CORRECTION OF BEHAVIOUR REACTIONS OF RATS, WHICH HAVE BEEN UNDERGONE CHRONIC STRESS, BY QUINAZOLINE DERIVATIVES (PK-66), EMOXIPINE AND SEMAXE

I.F. Belenichev, S.V. Pavlov, S.I. Kovalenko, K.P. Shabelnyk
ZAPORIZHZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

It is shown, that chronic immobilization stress (CIS) results in development of cognitive deficiency, which is expressed in decreasing of motional activity and infringement of processes of training and memory. Introduction of PK-66 in a doze 10 mg/kg, emoxipine – 100 mg/kg, semaxe – 300 mg/kg to experimental animals, results in restoration of processes of training and memory and in increase of motional activity. PK-66 in conditions of CIS modeling authentically exceeded semaxe and emoxipine by its influence on processes of training and memory. Its effect and effect of semaxe coincided on rough-research behaviour.

KEY WORDS: chronic immobilization stress, training, memory, rough-research behaviour, quinazoline derivatives.

Отримано 06.02.2006 р.

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

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

ПОРУШЕННЯ ТА КОРЕКЦІЯ ОБМІНУ АДЕНІННУКЛЕОТИДІВ У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ПРИ ОТРУЄННІ БЛІДОЮ ПОГАНКОЮ

Б.А. Локай

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

У досліджах на білих щурах встановлено, що отруєння токсинами блідої поганки призводить до значного зменшення концентрації макроергічних фосфатів у печінці. Лікування отруєних тварин кокарбоксілазою та ліпоєвою кислотою позитивно впливає на стан усіх компонентів аденілатної системи.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: бліда поганка, аденіннуклеотиди, печінка, кокарбоксілаза, ліпоєва кислота.

ВСТУП. Згідно з класифікацією катастрофальних отрут Інституту фармакології та токсикології АМН України [3], до отрут, які несуть ризик масових отруєнь, відносять бліду поганку [7]. При отруєннях токсичними шапинковими грибами виду блідої поганки часто розвиваються критичні стани з формуванням поліорганної недостатності та високим відсотком летальності [8]. У патогенезі отруєнь блідою поганкою (БП) чільне місце займають порушення обмінних процесів у печінці, яка адсорбує понад 50 % отрути [10]. Зміни в енергетичному обміні є однією з важливих ланок у патогенезі токсичного ураження печінки отрутою БП, однак механізми цих змін майже не досліджували. З лікувальною метою у складі комплексної терапії отруєнь застосовують кокарбоксілазу (КК) і ліпоєву кислоту (ЛК) [2, 4]. Використання в комплексній терапії великої кількості життєво необхідних складників унеможлиблює оцінку конкретного внеску КК і ЛК, потрібну для аналізу метаболічних порушень, які виникають і лежать в основі клінічних проявів отруєнь БП.

Метою даної роботи було вивчення можливості фармакологічної корекції порушень енергетичного обміну в печінці щурів, отруєних екстрактом БП, з використанням КК і ЛК.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на щурах-самцях масою тіла 180-220 г. Усіх тварин розділили на 3 групи: 1-ша – інтактні (контроль), 2-га – отруєні й 3-тя –

© Б.А. Локай, 2006.

отруєні та ліковані. Отруювали щурів шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення екстракту БП у дозі ЛД₅₀. Лікування розпочинали через 2 год після отруєння. Лікарські препарати вводили один раз на добу внутрішньоочеревинно в дозах (мг/кг): КК – 25, ЛК – 100. Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації під легким ефірним наркозом через 6, 24 і 72 год після отруєння. З тканини печінки готували 10 % гомогенат на 0,05 М трис-буфері (рН=7,4) при температурі +4 °С. Вміст АТФ, АДФ і АМФ визначали з використанням наборів реактивів фірми "Boeringer Mannheim", неорганічного фосфору (Фн) – реактивів фірми "Lachema". З отриманих показників розраховували енергетичний заряд (ЕЗ) [9], потенціал фосфорилування (ПФ) [6], а також відношення діючих мас аденілаткінази (ДМак) [11].

Цифрові результати досліджень оброблено статистично з використанням програм "Microsoft Excel" та "Statistica for Windows, Release 5.0".

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз отриманих даних свідчить про те, що в печінці отруєних тварин протягом усього періоду дослідження, особливо через 24 год після отруєння, різко знижуються сумарний вміст аденіннуклеотидів (САН), рівень АТФ і АДФ з одночасним підвищенням концентрації АМФ і Фн (табл. 1). Через 24 год від початку дослідження відмічено, порівняно з контролем, зменшення вмісту САН на 73 %, АТФ – на 86 %, АДФ – на 47 %, збільшення рівня АМФ на 14 % і Фн – у 1,8 раза.

Для нормального функціонування клітин суттєвий не стільки абсолютний вміст аденінових нуклеотидів, скільки їх співвідношення [5], яке у всі строки досліду відрізнялося від показників контролю і характеризувалося відносним зменшенням рівня АТФ, збільшенням АДФ і АМФ (табл. 2). Значне зменшення вмісту АТФ компенсувалося відносним підвищенням концентрації АДФ та зниженням показника ДМак, що, поряд із зростанням вмісту Фн, зумовлює зниження ПФ у 4 рази та ЕЗ – на 1/3.

Порівняно з показниками отруєних тварин, лікування КК і ЛК суттєво поліпшило показники обміну аденіннуклеотидів: рівень САН збільшився вдвічі, АТФ – у 3,3 рази, АДФ – у 1,7 рази, вміст АМФ зменшився на 54 % і Фн – у 2,6 рази. Одночасно відмічалось зростання показників ПФ, ДМак і ЕЗ, що свідчить про інтенсифікацію синтезу АТФ.

Порушення обміну аденіннуклеотидів у печінці отруєних токсинами БП щурів могло бути зумовлено як інтенсивним використанням АТФ, так і порушенням процесів енергопродукції. Відомо, що токсини БП руйнують структуру і зменшують функціональну активність мітохондрій, а також ряд синтезів, які використовують енергію АТФ [1]. Підвищення вмісту АТФ у печінці лікованих тварин може бути результатом активації піруватдегідрогеназного комплексу, кофакторами якого є КК і ЛК.

ВИСНОВКИ. 1. Отруєння щурів екстрактом блідої поганки призводить до значного зменшення в печінці вмісту АТФ, АДФ, суми аденіннуклеотидів, ЕЗ, ПФ і ДМак, збільшення концентрації АМФ і Фн.

2. Лікування отруєних тварин КК і ЛК значною мірою поліпшує показники всіх компонентів аденілатної системи.

Таблиця 1 – Вплив кокарбоксілази і ліпоєвої кислоти на вміст аденіннуклеотидів (мкмоль/г) і неорганічного фосфору (мкмоль/г) у печінці щурів, отруєних екстрактом блідої поганки ($M \pm m$; $n=6$)

Показник	Група тварин	Строки дослідження, год		
		6	24	72
АТФ	1		3,35±0,130	
	2	1,08±0,136*	0,47±0,071*	1,03±0,011*
	3	1,42±0,164*	1,54±0,062* #	2,07±0,010* #
АДФ	1		0,60±0,055	
	2	0,54±0,059*	0,32±0,044*	0,54±0,056*
	3	0,62±0,089*	0,55±0,051* #	0,46±0,033*
АМФ	1		0,34±0,040	
	2	0,62±0,030*	0,39±0,035*	0,35±0,040*
	3	0,51±0,059*	0,35±0,043*	0,31±0,013*
САН	1		4,29±0,193	
	2	2,24±0,107*	1,18±0,081*	2,22±0,167*
	3	2,55±0,238*	2,44±0,053* #	2,84±0,010* #
Фн	1		13,2±0,3	
	2	16,7±0,6*	24,2±1,1*	18,4±1,2*
	3	16,1±1,1*	16,8±1,1* #	14,8±0,9#

Примітка. Тут і в наступній таблиці: 1. * – зміни достовірні відносно інтактних тварин ($p < 0,05$). 2. # – зміни достовірні відносно отруєних тварин ($p < 0,05$).

Таблиця 2 – Вплив кокарбоксілази і ліпоєвої кислоти на співвідношення показників енергетичного обміну в печінці щурів, отруєних екстрактом блідої поганки ($M \pm m$; $n=6$)

Показник	Група тварин	Строки дослідження, год		
		6	24	72
АТФ:АДФ: АМФ	1		78:14:8	
	2	48:24:28	39:27:34	54:28:18
	3	56:24:20	63:23:14	73:16:11
ЕЗ	1		0,9±0,01	
	2	0,6±0,03*	0,5±0,03*	0,6±0,02*
	3	0,7±0,02*	0,7±0,03* #	0,8±0,01* #
ПФ	1		0,4±0,04	
	2	0,1±0,03*	0,1±0,02*	0,1±0,01
	3	0,2±0,04*	0,2±0,03* #	0,3±0,05#
ДМак	1		3,6±0,86	
	2	3,0±0,88	2,2±0,69*	1,2±0,43*
	3	2,5±0,69*	2,1±0,53*	3,4±0,75#

ЛІТЕРАТУРА

1. Бойчук Б.Р. Отруєння грибами. – Тернопіль: Укрмедкнига, 1997. – 200 с.
2. Бондарь В.К., Кизиль И.П., Крауз В.А. и др. Гемосорбция в комплексном лечении острых экзотоксикозов / Под. ред. Л.В. Усенко. – К.: Здоров'я, 1986. – 256 с.
3. Губский Ю.И., Долго-Сабуров В.Б., Храпак В.В. Химические катастрофы и экология. – К.: Здоров'я, 1993. – 223 с.
4. Малыш И.Р., Макарук В.А., Цепляев В.И. Алгоритмы дифференцированной интенсивной терапии пациентов с отравлением гепатотропными грибами // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія. – 2000. – № 1(д). – С. 128-130.
5. Ньюсхолм Э., Старт К. Регуляция метаболизма: Пер. с англ. – М.: Мир, 1977. – 407 с.
6. Страйер Л. Биохимия: В 3 т.: Пер. с англ. – М.: Мир, 1985. – 2. – 312 с.
7. Храпак В.В. Природно-географічна та соціальна обумовленість ризику уражень отрутами біологічного походження // Соврем. пробл. токсикологии. – 1999. – № 2. – С. 4-13.
8. Циганенко О.І., Матасар І.Т., Григор'єва Л.І. Матеріали про грибні отруєння серед населення України. – К., 1997. – 100 с.
9. Atkinson D.E. The energy charge of the adenilate pool as a regulatory parameter // Biochemistry. – 1968. – № 8. – P. 4030-4034.
10. Rehbindler D., Loffler G., Wieland O. Studien uber den Mechanismus der Giftwirkung des Phalloidins mit radioactiv markierten Giftstoffen // Z. Physiol. Chem. – 1963. – Bd 331. – S. 132-142.
11. Veech R.L., Rajiman L., Krebs H.A. Microenvironments and metabolic compartmentation. – N.Y.: Acad. Press, 1978. – P. 17-60.

НАРУШЕНИЯ И КОРРЕКЦИЯ ОБМЕНА АДЕНИННУКЛЕОТИДОВ В ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ОТРАВЛЕНИИ БЛЕДНОЙ ПОГАНКОЙ

Б.А. Локай

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

В опытах на белых крысах установлено, что отравление токсинами бледной поганки приводит к значительному уменьшению концентрации макроэргических фосфатов в печени. Лечение отравленных животных кокарбоксилазой и липоевой кислотой позитивно влияет на состояние всех компонентов аденилатной системы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: бледная поганка, адениннуклеотиды, печень, кокарбоксилаза, липоевая кислота.

DISORDERS AND CORRECTION OF ADENINNUCLEOTIDE METABOLISM IN RAT LIVER UNDER CONDITIONS OF AMANITA PHALLOIDES INTOXICATION

B.A. Lokay

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

It was established that in experiments on white rats *Amanita phalloides* intoxication caused considerable decrease of contents of macroergic phosphates in liver. Treatment of intoxicated animals with cocarboxylase and lipoic acid positively influenced on the state of all components of adenilate system.

KEY WORDS: *Amanita phalloides*, adeninnucleotides, liver, cocarboxylase, lipoic acid.

Отримано 09.11.2005 р.

Адреса для листування: Б.А. Локай, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, майдан Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

РОЗРОБКА МЕТОДИК СТАНДАРТИЗАЦІЇ ВАГІНАЛЬНИХ СУПОЗИТОРІЇВ ІЗ ГЛЮКОРИБІНОМ

Д.І. Дмитрієвський, Є.О. Передерій, О.О. Катаєва
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ
ЛУГАНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Розроблено методики ідентифікації і кількісного визначення діючих речовин у новому лікарському препараті – вагінальних супозиторіях із глюкорибіном. Ідентифікацію глюкорибіну запропоновано здійснювати методом тонкошарової хроматографії, бензалконій хлорид ідентифікують спектрофотометрично і реакцією на хлоридіон. Середню масу, однорідність вмісту, розпадання, температуру плавлення визначали за методиками ДФУ. Кількісне визначення глюкорибіну базується на спектрофотометричному визначенні кількісного вмісту відновлювальних моносахаридів після гідролізу полісахаридного комплексу. Кількісний вміст бензалконію хлориду у вагінальних супозиторіях із глюкорибіном запропоновано визначати за допомогою спектрофотометрії при $\lambda=257$ НМ. Розроблені методики стандартизації закладено в проект аналітичної нормативної документації на препарат. Вивчено стабільність вагінальних супозиторіїв протягом двох років зберігання.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: вагінальні супозиторії, протизаплідна дія, глюкорибін, властивості.

ВСТУП. Розв'язання актуальних у наш час проблем планування сім'ї, регулювання народжуваності, збереження репродуктивного здоров'я населення України пов'язане із запобіганням вагітності. Не останнє місце тут займає контрацепція із застосуванням передбачених для цього лікарських засобів [1]. Для ефективної контрацепції широко використовують гормональні контрацептиви [8]. Але їх недоліком є наявність багатьох протипоказань та велика кількість побічних ефектів [2, 8, 9]. До цього ще можна додати необхідність кожного дня приймати таблетки, особливо особам, які мають нерегулярні статеві стосунки. Тому для контрацепції потрібні лікарські препарати, які б не мали загального впливу на організм, були ефективні та безпечні [9].

На кафедрі заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету розроблено новий вітчизняний лікарський препарат для місцевої контрацепції на основі речовини природного походження – вагінальні супозиторії з глюкорибіном. У процесі розробки складу супозиторіїв було застосовано як основну діючу речовину біологічно активну субстанцію "Глюкорибін", отриману на кафедрі хімії природних сполук з листків смородини чорної та рекомендовану до використання в медичній практиці [5]. До складу вагінальних

© Д.І. Дмитрієвський, Є.О. Передерій, О.О. Катаєва, 2006.

супозиторіїв із глюкорибіном ми також увели бензалконію хлорид – антисептик широкого спектра дії [8] з метою забезпечення локальної антибактеріальної дії препарату та посилення контрацептивного ефекту.

При вивченні властивостей вагінальних супозиторіїв було застосовано загальноприйняті методики органолептичних, фізико-хімічних та фармако-технологічних досліджень, які дозволяють об'єктивно оцінювати якісні характеристики препарату на підставі експериментально одержаних та статистично оброблених результатів [7, 10, 12].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. За вимогами Державної фармакопеї України вагінальні супозиторії повинні бути стандартизовані за такими показниками, як: опис, ідентифікація, середня маса й однорідність маси, однорідність вмісту, розпадання, температура плавлення, мікробіологічна чистота, кількісне визначення [3, 4, 12].

Зовнішній вигляд оцінювали візуально: описували форму та колір вагінальних супозиторіїв, а також відмічали наявність чи відсутність запаху.

Для ідентифікації препарату було запропоновано методики виявлення біологічноактивних речовин глюкорибіну: полісахаридів (з 96 % етанолом) і відновлювальних моносахаридів після гідролізу полісахаридів (методом

тонкошарової хроматографії (ТШХ)) та виявлення бензалконію хлориду (з розведеною азотною кислотою, за характерним спектром поглинання в ультрафіолетовому випромінюванні та з нітратом срібла на хлорид-іон).

Середню масу вагінальних супозиторіїв та однорідність вмісту глюкорибіну і бензалконію хлориду вагінальних супозиторіїв з глюкорибіном визначали за методиками ДФУ, 2.9.5, 2.9.6.

Температуру плавлення визначали на приладі ВІСНІ 535, передбаченому для виявлення точок плавлення і кипіння в діапазоні температур від кімнатної до 280 °С. Температура плавлення супозиторіїв не повинна перевищувати 37 °С.

Розробку методик випробування на мікробіологічну чистоту проводили відповідно до вимог ДФУ, 2.6.12 N, 2.6.13 N як для вагінального препарату.

Суттєвою оцінкою якості лікарських форм, регламентованою нормативно-технічною документацією, є показник стабільності вмісту діючих речовин [11]. Тому розробка методик кількісного визначення діючих речовин у вагінальних супозиторіях з глюкорибіном – одне з головних завдань даного дослідження в аспекті встановлення певних критеріїв оцінки стандартності препарату. В основу методики виділення складових лікарського препарату було покладено різну розчинність глюкорибіну, бензалконію хлориду та твердого жиру (основи) у воді, органічних та неорганічних розчинниках. Передбачалась можливість розділення суміші за допомогою комбінації розчинників та проведення аналізу кожної діючої речовини окремо.

Для встановлення терміну придатності запропоновані вагінальні супозиторії з глюкорибіном були закладені на зберігання та підлягали протягом 2 років контролю за всіма розробленими методиками аналізу.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. За зовнішнім виглядом препарат являє собою супозиторії яйцеподібної форми, світло-коричневого кольору, без запаху.

При розробці методик ідентифікації було визначено оптимальні умови проведення аналізу суміші діючих речовин та супозиторної маси. Для цього за рахунок різної розчинності досягнули повного поетапного виділення кожного компонента суміші окремо та провели їх ідентифікацію.

Методика виділення діючих речовин: 20 г подрібнених супозиторіїв (5 супозиторіїв) вміщують у плоскодонну колбу на 250 мл,

додають 100 мл петролейного ефіру, перемішують за допомогою магнітної мішалки протягом 20 хв. Суміш переносять у центрифужні склянки. Колбу промивають 10 мл петролейного ефіру і додають промивний розчин до центрифужної суміші. Суміш центрифугують зі швидкістю 6000 об./хв протягом 20 хв.

Надосадову рідину зливають у ділильну лійку і двічі збовтують з 15 мл води, відділяючи водний шар в окрему колбу. Осад тричі обробляють водою по 15 мл і фільтрують через паперовий фільтр "синя стрічка" в колбу, що містить водний розчин з попередньої операції, який використовують для визначення бензалконію хлориду, а осад – для випробувань на глюкорибін.

Для проведення реакції ідентифікації полісахаридів глюкорибіну до розчину осаду в теплій воді додають 96 % етиловий спирт, з'являються пластинчаті згустки, а потім випадає в осад полісахарид – глюкорибін. Беручи до уваги ту обставину, що дана реакція сама по собі не є селективною, а характерна й для інших біологічноактивних сполук, нами запропоновано також проводити реакцію на відновлювальні моносахариди полісахаридного комплексу глюкорибіну (після його гідролізу) за допомогою методу ТШХ [6]. Для цього осад (полісахариди) гідролізують у стандартних умовах (1 год при 100 °С з 10 % розчином кислоти сірчаної) і отриманий гідролізат хроматографують на пластинках "Силуфол" у системі розчинників "оцтова кислота крижана – етиловий ефір оцтової кислоти – вода" (1:2:2,5) з трикратною розгонкою розчинників. Ідентифікацію проводять шляхом паралельного хроматографування розчину препарату і достовірних стандартних зразків арабінози та галактози, отриманих в Державному науковому центрі лікарських засобів (м. Харків). Хроматограму після закінчення хроматографування висушують на повітрі, обробляють анілін-фталатним реактивом і нагрівають у сушильній шафі протягом 10 хв при 100 °С. Виявляли плями, забарвлені в буруватий колір – галактозу; в рожевий колір – арабінозу на рівні плям на хроматограмі розчину стандартних зразків галактози та арабінози. Результати хроматографічних досліджень, які наведені на рисунку 1 підтвердили ідентичність складу відновлювальних моносахаридів у вагінальних супозиторіях з глюкорибіном з відновлювальними моносахаридами вихідної субстанції "Глюкорибін" після їх гідролізу.

Для ідентифікації бензалконію хлориду 1 мл фільтрату препарату вміщували у пробірку, додавали 1 мл розведеної азотної кислоти.

З'являвся білий осад, який відфільтрували і розчиняли в 1 мл 96 % спирту етилового.

Для уточнення присутності хлорид-іонів бензалконію в пробірку з 2 мл фільтрату додавали 0,4 мл розчину нітрату срібла, підкисленого розведеною азотною кислотою. Утворювався білий сирнистий осад. Осад відфільтрували та перенесли у пробірку з 1 мл розчину аміаку. Осад повністю розчинявся.

Для підтвердження присутності бензалконію хлориду в вагінальних супозиторіях з глюкорибіном використовували розчин, приготовлений для кількісного визначення. На спектрофотометрі СФ-56 знімали спектр поглинання в межах 220-350 нм. Умови проведення дослідів відповідали ДФУ, 2.2.25. На УФ-спектрі (рис. 2) зразка препарату спостерігали максимуми: піки при 257, 263, (269±2) нм та плато при (250±2) нм.

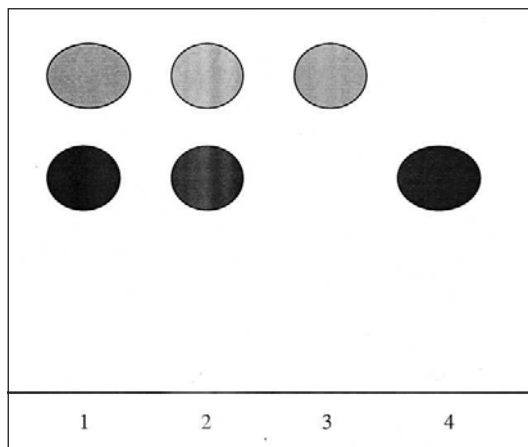


Рис. 1. Схема тонкошарової хроматограми розчину полісахаридного комплексу після гідролізу глюкорибіну (субстанції) та вагінальних супозиторіїв з глюкорибіном: 1. Вагінальні супозиторії з глюкорибіном.

2. Глюкорибін.
3. Стандартний розчин арабінози.
4. Стандартний розчин галактози.

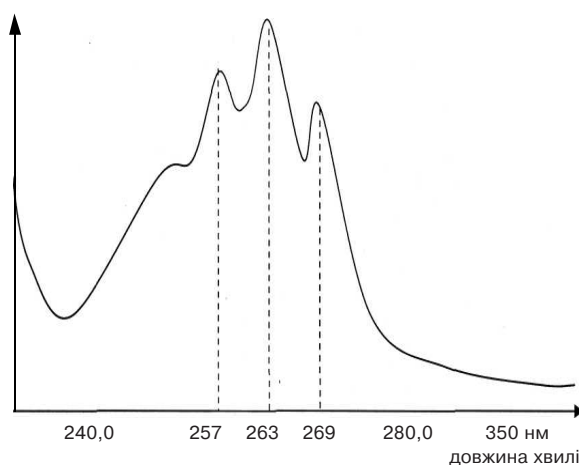


Рис. 2. УФ-спектр зразка вагінальних супозиторіїв з глюкорибіном.

У ході проведених досліджень було встановлено, що якісний склад вагінальних супозиторіїв з глюкорибіном відповідає складу біологічно активних речовин субстанції "Глюкорибін" та бензалконію хлориду, про що свідчать результати наведені в таблиці 1.

Проведені дослідження з визначення середньої маси п'яти напрацьованих серій вагінальних супозиторіїв з глюкорибіном показали, що їх маса коливається в межах від 3,95 до 4,06 г, тобто не перевищує межі ±2 % (табл. 2).

Однією з основних вимог для вагінальних супозиторіїв [3, 4] є показник розпадання. При вивченні розпадання вагінальних супозиторіїв з глюкорибіном було встановлено, що супозиторії розпадались приблизно за 19-20 хв за умови використання підігрітого до 37 °С рідкого середовища на приладі "кошик, що обертається".

Випробування на загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів, ентеробактерій та наявність патогенної мікрофлори показало задовільні результати поточних п'яти аналізів напрацьованих серій та у процесі зберігання вагінальних супозиторіїв з глюкорибіном у контурних чарункових упаковках протягом 2 років (табл. 3).

Кількісне визначення

Відновлювальні моносахариди. Визначення проводили методом абсорбційної спектрофотометрії (ДФУ, 2001, 2.2.25). Для цього за вищенаведеною методикою відокремлювали глюкорибін (залишок після центрифугування), проводили гідроліз полісахаридів (у середовищі хлористоводневої кислоти при нагріванні) та спектрометричне визначення отриманих цукрів при 260 нм після реакції з пікриновою кислотою.

Паралельно визначали оптичну густину 1 мл розчину державного стандартного зразка (ДСЗ) глюкози, який оброблено аналогічно випробовуваному розчину.

Вміст відновлювальних моносахаридів у перерахунку на глюкозу (X) в одному вагінальному супозиторії, у грамах, визначали за формулою:

$$X = \frac{A_1 \times m_0 \times 25 \times 25 \times 10 \times b}{A_0 \times m_1 \times 100 \times 25 \times 25} = \frac{A_1 \times m_0 \times b}{A_0 \times m_1 \times 10}$$

де A_1 – оптична густина випробовуваного розчину;

A_0 – оптична густина розчину ДСЗ глюкози;

m_1 – маса наважки препарату, г;

m_0 – маса наважки ДСЗ глюкози, г;

b – середня маса супозиторія, г.

Таблиця 1 – Результати спостережень ідентифікації діючих речовин у вагінальних супозиторіях з глюкорибіном

Спосіб ідентифікації	Досліджуваний об'єкт		
	Глюкорибін	Бензалконію хлорид	Вагінальні супозиторії з глюкорибіном
Реакція виявлення полісахаридів з 96 % спиртом етиловим	Пластинчасті згустки		З'являються пластинчасті згустки
Хроматографування у тонкому шарі сорбенту	З'являються пляма бурого кольору на рівні плями бурого кольору стандартного зразка галактози, пляма рожевого кольору на рівні плями рожевого кольору стандартного зразка арабінози, наявні інші плями моносахаридів		З'являються пляма бурого кольору на рівні плями бурого кольору стандартного зразка галактози, пляма рожевого кольору на рівні плями рожевого кольору стандартного зразка арабінози, інші плями моносахаридів
Реакція з розведеною азотною кислотою		Білий осад, розчинний у 96 % етанолі	З'являється білий осад, розчинний у 96 % етанолі
Реакція з нітратом срібла на хлорид-іон		Білий сирнистий осад	З'являється білий сирнистий осад
Спектрофотометричне визначення в межах від 220 до 350 нм		Піки за довжини хвилі при 257, 263, 269 нм та плато при 250 нм	Реєструються піки за довжини хвилі при 257, 263, 269 нм та плато при 250 нм

Таблиця 2 – Аналіз однорідності маси вагінальних супозиторіїв з глюкорибіном

Середнє значення відхилення, %	Вимоги ДФУ	Номер серії				
		1	2	3	4	5
	±5%	±1,25 %	±1,2 %	±1,45 %	±1,5 %	±1,0%

Вміст відновлювальних моносахаридів у перерахунку на глюкозу в одному супозиторії повинен бути не меншим 0,006 г.

Бензалконію хлорид. Визначення проводили методом абсорбційної спектрофотометрії (ДФУ, 2001, 2.2.25) водної фракції, одержаної за вищенаведеною методикою розділення діючих речовин вагінальних супозиторіїв з глюкорибіном, при довжині хвилі 257 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння воду очищену.

Паралельно вимірювали оптичну щільність розчину робочого стандартного зразка (РСЗ) бензалконію хлориду з концентрацією 30 мг/100 мл.

Вміст бензалконію хлориду (X) в одному супозиторії, в грамах, визначали за формулою:

$$X = \frac{D_1 \times m_0 \times 4 \times 100}{D_0 \times m_1}$$

де D_1 – оптична густина випробовуваного розчину;

D_0 – оптична густина розчину РСЗ бензалконію хлориду;

m_1 – маса наважки препарату, г;

m_0 – маса наважки РСЗ бензалконію хлориду, г.

Вміст бензалконію хлориду в одному супозиторії повинен бути від 0,0068 до 0,0083 г.

Статистичну обробку результатів кількісного визначення активних компонентів вагінальних супозиторіїв з глюкорибіном наведено в таблиці 3.

За результатами статистичної обробки результатів кількісного аналізу, відносна похибка визначення глюкорибіну не перевищувала ±4,3 %, а бензалконію хлориду – ±3,9 %.

За допомогою розроблених методик кількісного визначення глюкорибіну та бензалконію хлориду визначили однорідність вмісту цих речовини у запропонованих вагінальних супозиторіях з глюкорибіном. Вміст глюкорибіну (відновлювальних моносахаридів) коливався в межах від 0,0072 до 0,0066 г, а бензалконію хлориду – від 0,0074 до 0,0080 г, у кожному з 10 взятих для аналізу вагінальних супозиторіїв з глюкорибіном, що відповідає вимогам ДФУ.

Вагінальні супозиторії з глюкорибіном було упаковано по 10 супозиторіїв у контурну чарункову упаковку з плівки полівінілхлоридної та закладено на зберігання в сухому, захищеному від світла місці при двох температурних режимах. Результати аналізів, наведені в таблиці 3, показали, що препарат дає чіткі позитивні реакції протягом 2-х років спостереження; середня маса, однорідність маси, однорідність вмісту, розпадання, температура плавлення, мікробіологічна чистота вкладаються в допустимі нор-

Таблиця 3 – Результати поточних аналізів вагінальних супозиторіїв у процесі зберігання

Параметри оцінки якості	Вимоги АНД	Дата аналізу та переконтролю				
		10.01.03	12.06.03	14.11.03	12.03.04	10.09.04
Опис	Вагінальні супозиторії яйцеподібної форми, світло-коричневого кольору, без запаху	Вагінальні супозиторії яйцеподібної форми, світло-коричневого кольору, без запаху				
Середня маса	Від 3,8 до 4,2 г	3,95	4,05	4,10	4,05	4,0
Однорідність маси	±5 % від середньої маси вагінального супозиторія, тільки 2 вагінальні супозиторії з 20 можуть вийти за ці межі, але не перевищувати ±10 %	Відпов.	Відпов.	Відпов.	Відпов.	Відпов.
Розпадання	Не більше 60 хв	19,2	19,2	19,3	19,3	19,2
Температура плавлення	Не більше 37 °С	36,8	36,9	36,7	36,8	36,8
Ідентифікація						
<i>Глюкорибін:</i> 1. Полісахариди – реакція з 96 % етанолом	Утворюються пластинчасті згустки	Позитив.	Позитив.	Позитив.	Позитив.	Позитив.
2. Відновлювальні моносахариди після гідролізу полісахариду – ТШХ	На хроматограмі випробовуваного розчину повинні виявлятися плями, забарвлені в буруватий колір, – галактоза; у рожевий колір – арабіноза на рівні плями на хроматограмі С3 галактози та арабінози. Можлива наявність плям інших моносахаридів	Відпов.	Відпов.	Відпов.	Відпов.	Відпов.
<i>Бензалконію хлорид:</i> 1. Реакція з розведеною азотною кислотою	Утворюється білий осад, розчинний у 95 % етиловому спирті	Позитив.	Позитив.	Позитив.	Позитив.	Позитив.
2. Спектрофотометрія	Спостерігаються максимуми поглинання (піки) при 257, 263, 269 нм та плато при (250 +2) нм	Позитив.	Позитив.	Позитив.	Позитив.	Позитив.
3. Реакція з розчином срібла нітрату	Утворюється білий сирнистий осад	Позитив.	Позитив.	Позитив.	Позитив.	Позитив.
Однорідність вмісту	Вміст діючих речовин у кожному з 10 вагінальних супозиторіїв повинен бути від 85,0 до 115 %, від вказаного в розділі "Склад на один супозиторій", а відносно стандартне відхилення не повинно перевищувати 6,0 %. Вміст діючих речовин у кожному з 30 вагінальних супозиторіїв повинен бути від 85,0 до 115 %, від вказаного у розділі "Склад на один супозиторій", і тільки в одному з 30 супозиторіїв вміст кожної з діючих речовин може перевищувати ±15 % від вказаної в розділі "Склад на один супозиторій", але не більше ±25 %, а відносно стандартне відхилення для 30 супозиторіїв не повинно перевищувати 7,8 %	Відпов.	Відпов.	Відпов.	Відпов.	Відпов.
Мікробіологічна чистота	В 1 г препарату допускається наявність не більше 100 бактерій і грибів (сумарно). Не допускається наявність ентеробактерій і деяких інших грамнегативних бактерій у 1 г, а також <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	Відпов.	Відпов.	Відпов.	Відпов.	Відпов.
Кількісне визначення <i>Глюкорибін</i> (відновлювальні моносахариди)	Не менше 0,006 г	0,0069	0,0068	0,0067	0,0071	0,0072
<i>Бензалконію хлорид</i>	Від 0,0068 до 0,0083 г у перерахунку на середню масу одного супозиторія	0,0074	0,0076	0,0075	0,0075	0,0079

ми; кількісний вміст як глюкорибіну (за кількістю відновлювальних моносахаридів), так і бензалконію хлориду коливається у межах похибки досліду.

На підставі проведених досліджень складено проект АНД на вагінальні супозиторії з глюкорибіном, який регламентує їх якість за вказаними органолептичними та фізико-хімічними показниками.

ВИСНОВКИ. 1. Новий лікарський препарат у вигляді вагінальних супозиторіїв, розроблений на основі речовини природного похо-

дження – глюкорибіну, згідно з вимогами ДФУ, стандартизовано за такими показниками, як: опис, ідентифікація, середня маса й однорідність маси, однорідність вмісту, розпадання, температура плавлення, мікробіологічна чистота, кількісне визначення.

2. Розроблені методики стандартизації закладено в проект АНД на препарат. У результаті проведених досліджень встановлено термін придатності вагінальних супозиторіїв з глюкорибіном – 2 роки в однодозових чарункових упаковках при температурі, не вищій +25 °С.

ЛІТЕРАТУРА

1. Венцківський Б.М., Веропотвелян П.Н., Лугол В.Н. та ін. // Вісник асоціації акушерів-гінекологів України. – 2000. – № 2 (7). – С. 11-14.

2. Вовк І.Б. Комбіновані гормональні оральні контрацептиви та сучасний метод планування сім'ї // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 1997. – № 2. – С. 54-58.

3. Державна фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-ше вид. – Доп. 1. – Х.: PIPEГ, 2004. – 494 с.

4. Державна фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-ше вид. – Х.: PIPEГ, 2001. – 531 с.

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

6. Кисличенко В.С., Криворучко О.В., Чушен-

ко В.М та ін. Наукові основи розробки лікарських препаратів: Матеріали Наукової сесії відділення хімії НАН України. – Х.: Основа, 1998. – С. 292-295.

7. Международная фармакопея / Всемирная организация здравоохранения. – 2-е изд. – Женева. – 1969. – 983 с.

8. Хабаш Э.С. Современные аспекты гормональной контрацепции // Рос. мед. журн. – 2004. – № 1. – С. 38-42.

9. Шехтман М.М. Терапевтические аспекты контрацепции // Терапевт. архив. – 1999. – № 10. – С. 65-70.

10. British Pharmacopoeia // General Notices 8001-54-5. / British Pharmacopoeia Commission. – London, 1998. – 2253 p.

11. Encyclopaedia of Pharmaceutical Technology / Ed. J. Swarbrick, I.C. Boylan. – 2-nd – New-York, Basel: Marcel Dekker, inc., 2002. – Vol. 3. – 3032 p.

12. European Pharmacopoeia, 4th Ed. – Strasbourg: Council of Europe, 2001. – 2416 p.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК СТАНДАРТИЗАЦИИ ВАГИНАЛЬНЫХ СУППОЗИТОРИЕВ С ГЛЮКОРИБИНОМ

Д.И. Дмитриевский, Е.А. Передерий, О.А. Катаева
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ЛУГАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Разработаны методики идентификации и количественного определения действующих веществ в новом лекарственном препарате – вагинальных суппозиториях с глюкорибином. Идентификацию глюкорибина предложено осуществлять методом тонкослойной хроматографии, бензалкония хлорид идентифицируют спектрофотометрически и реакцией на хлорид-ион. Среднюю массу, однородность содержания, распадаемость, температуру плавления определяли по методикам ГФУ. Количественное

определение глюко ribина основано на спектрофотометрическом определении количественного содержания восстанавливающих моносахаридов после гидролиза полисахаридного комплекса. Количественное содержание бензалкония хлорида в вагинальных суппозиториях с глюко ribином предложено определять с помощью спектрофотометрии при $\lambda=257$ нм. Разработанные методики стандартизации заложены в проект аналитической нормативной документации на препарат. Изучена стабильность вагинальных суппозиторияев в течение двух лет хранения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: вагинальные суппозитории, противозачаточное действие, глюко ribин, свойства.

DEVELOPMENT OF STANDARDIZATION METHODS FOR VAGINAL SUPPOSITORIES WITH GLUCORIBIN

D.I. Dmytrievsky, Ye.O. Perederiy, O.O. Katayeva
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY
LUHANSK STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

The method for identification and quantitative determination of active substances in a new medication – vaginal suppositories with glucoribin have been elaborated. Identification of glucoribin has been offered to be carried out by means of thin-layer chromatography, benzalconium chloride is identified by means of spectrophotometry and chloride-ion reaction. An average weight, content homogeneity, decay and melting temperature have been determined according to the methods of State Pharmacopoeia of Ukraine. Quantitative determination of glucoribin is based on spectrophotometric determination of quantitative content of reducing monosaccharides after hydrolysis of polysaccharides after hydrolysis of polysaccharide complex. Quantitative content of benzalconium chloride in vaginal suppositories with glucoribin has been determined by means of spectrophotometry at $\lambda=257$ nm. The elaborated methods of standardization have been installed into the project of analytical normative documents for the medication. Stability of vaginal suppositories has been studied during two years of storing.

KEY WORDS: vaginal suppositories, contraceptive action, glucoribin, properties.

Отримано 20.02.2006 р.

Адреса для листування: Д.І. Дмитрієвський, вул. 23 Серпня, 55, кв. 71, Харків, 61103, 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” Тернопільського державного медичного університету
ім. І.Я. Горбачевського, майдан Волі, 1, м.Тернопіль, 46001
тел./факс (0352) 52-41-83; тел. 52-78-54

Медична хімія — т. 8, № 2, 2006

УДК 577.152.2:54-38

РЕГУЛЯЦІЯ АКТИВНОСТІ ТИРОЗИНАМІНОТРАНСФЕРАЗИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ

С.М. Охріменко

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В.Н. КАРАЗІНА

Вивчено активність тирозинамінотрансферази печінки щурів у динаміці при оксидативному стресі, що спричинений введенням в організм хлоридів кобальту або ртуті. Встановлено активуючу дію солей даних металів на фермент протягом доби. Використання актиноміцину D показало, що зростання активності тирозинамінотрансферази в перші години після введення солей металів відбувається шляхом синтезу ферменту *de novo*. Збереження підвищеної активності ферменту через добу може бути пов'язаним зі зменшенням швидкості його деградації. Обговорюються механізми регуляції активності тирозинамінотрансферази за умов оксидативного стресу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: тирозинамінотрансфераза, оксидативний стрес, хлорид кобальту, хлорид ртуті, печінка, щур.

ВСТУП. Тирозинамінотрансфераза (ТАТ, КФ 2.6.1.5 – L-тирозин: 2-оксоглутарат аміно-трансфераза) каталізує лімітувальний етап катаболізму тирозину та використання цієї амінокислоти в процесі глюконеогенезу в печінці. Фермент локалізований переважно у цитозолі та індукується глюкокортикоїдами як *in vivo*, так і *in vitro* [6]. Важливе місце в регуляції активності ТАТ посідають процеси деградації ферменту. Відомо, що розпад апоферменту ТАТ здійснюється у бік вітинзалежною системою за участю білкових тіолів [11, 13]. Співвідношення швидкостей синтезу та деградації ферменту відображають швидкість катаболізму тирозину в екстремальних умовах. Один з екстремальних станів – надходження в організм сполук важких металів та металів зі змінною валентністю, що спричиняють активацію процесів перекисного окиснення ліпідів, зміну активності ферментів, накопичення активних метаболітів кисню та розвиток оксидативного стресу [1, 8, 12]. Маловивченими є процеси адаптації ферментів азотистого обміну за цих умов. У зв'язку з цим, метою дослідження було вивчити вплив солей кобальту та ртуті на активність тирозинамінотрансферази в динаміці та з'ясувати деякі

механізми регуляції активності ферменту при оксидативному стресі, спричиненому надходженням в організм солей цих металів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі використовували щурів-самців лінії Вістар масою 150-180 г. CoCl_2 та HgCl_2 вводили внутрішньоочеревинно в дозах, відповідно, 3 та 0,7 мг на 100 г маси [5, 15]. Тварин декапітували під легким ефірним наркозом через 2, 4 та 24 год після введення солей. У серії експериментів з вивчення дії блокаторів білкового синтезу актиноміцину D вводили внутрішньоочеревинно в дозі 0,05 мг/100 г маси за 30 хв до введення розчину солі, щурів декапітували через 2 год після введення CoCl_2 або HgCl_2 . Печінку перфузували охолодженим фізіологічним розчином *in situ*. Активність ТАТ визначали в постмітохондріальній фракції печінки щурів за методом [16] і виражали в нмоль п-гідроксифенілпірувату/мг білка. Постмітохондріальну фракцію одержували шляхом центрифугування 20 % гомогенату протягом години при 13 000 об./хв у рефрижераторній центрифугі ЦЛР-1 [16].

Вміст білкових SH-груп у постмітохондріальній фракції печінки визначали методом [10] та виражали в ммоль SH-груп/кг тканини.

© С.М. Охріменко, 2006.

Вміст білка визначали методом Лоурі [14]. Достовірність змін оцінювали з використанням критерію Стьюдента.

У роботі використовували такі реактиви: актиноміцин D та піридоксальфосфат фірми "Reanal" (Угорщина), L-тирозин фірми "REXIM" (Франція), п-гідроксифенілпіруват фірми "Fluka" (Німеччина), інші реактиви вітчизняного виробництва марок ч.д.а. та х.ч.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як свідчать дані таблиць 1 та 2, введення в організм щурів хлоридів кобальту або ртуті в зазначених дозах спричиняє підвищення активності ТАТ в усі періоди часу, але динаміка змін активності ферменту залежить від виду металу. Відомо, що іони кобальту можуть безпосередньо активувати ПОЛ, заміщувати залізо в гемі й гемопротейнах та викликати розвиток гіпоксії, тоді як механізм дії ртуті полягає у зв'язуванні SH-груп білкових та небілкових сполук [2, 9]. Підвищення активності ТАТ при дії хлоридів кобальту та ртуті може бути пов'язане з

розвитком стрес-реакції в організмі тварин, що супроводжується зростанням рівня глюкокортикоїдів у крові та індукцією залежних від цього ферментів. Раніше нами була показана активація симпатико-адреналової та гіпофізарно-надниркової систем організму за умов оксидативного стресу, спричиненого введенням солей кобальту та ртуті. На це вказують дані про зниження вмісту глікогену печінки, активацію гормонозалежної ліпази жирової тканини та стимулювання глюконеогенезу, що проявляється підвищенням активності аланін- та аспартат-амінотрансфераз і аргінази в печінці [3, 4, 7].

Використання актиноміцину D перед введенням хлоридів кобальту або ртуті показало, що зростання активності ТАТ у зазначених умовах відбувається шляхом синтезу ферменту de novo (табл. 3 та 4), що може відображати індукцію ферменту під дією глюкокортикоїдів при оксидативному стресі в перші години його розвитку. Разом із тим, підвищена активність ТАТ через добу після введення зазначених чинників може бути пов'язана з

Таблиця 1 – Вплив хлориду кобальту на активність тирозинамінотрансферази печінки щурів (нмоль п-гідроксифенілпірувату/мг білка, $M \pm m$, $n=5-7$)

Контроль	Час після введення $CoCl_2$		
	2 год	4 год	24 год
4,89±0,31	8,8±0,47*	17,57±1,53*	11,46±0,92*

Примітка. Тут і в наступних таблицях: * – $p < 0,05$ відносно контролю.

Таблиця 2 – Вплив хлориду ртуті на активність тирозинамінотрансферази печінки щурів (нмоль п-гідроксифенілпірувату/мг білка, $M \pm m$, $n=5-7$)

Контроль	Час після введення $HgCl_2$		
	2 год	4 год	24 год
4,5±0,35	8,01±1,68*	15,0±2,19*	16,52±3,45*

Таблиця 3 – Вплив хлориду кобальту та актиноміцину D на активність тирозинамінотрансферази печінки щурів через 2 год після введення солі (нмоль п-гідроксифенілпірувату/мг білка, $M \pm m$, $n=5-7$)

Контроль	$CoCl_2$	$CoCl_2$ +актиноміцин D	Актиноміцин D
4,41±1,43	10,35±2,09*	6,38±0,65	4,39±1,02

Таблиця 4 – Вплив хлориду ртуті та актиноміцину D на активність тирозинамінотрансферази печінки щурів через 2 год після введення солі (нмоль п-гідроксифенілпірувату/мг білка, $M \pm m$, $n=5-7$)

Контроль	$HgCl_2$	$HgCl_2$ +актиноміцин D	Актиноміцин D
6,28±1,56	11,17±2,31*	7,72±1,91	4,39±1,02

Таблиця 5 – Вміст білкових SH-груп у печінці щурів через 4 год після введення хлоридів кобальту та ртуті (ммоль SH-груп/кг тканини, $M \pm m$, $n=5-7$)

Контроль	$CoCl_2$	$HgCl_2$
44,2±2,4	33,1±5,6*	27,3±5,6*

процесами деградації ферментного білка, оскільки період напівжиття цього ферменту складає 1,5-2 год [6].

Нещодавно було показано, що в процесі деградації ТАТ бере участь убіквітинзалежна білокдеградуюча система, до роботи якої залучені білкові тіоли [11, 13], і, таким чином, активність усієї системи залежить від редокс-статусу клітини. За умов оксидативного стресу відбувається окиснення багатьох молекул, зокрема білків, ліпідів тощо. Вивчення вмісту вільних SH-груп білків при дії хлоридів кобальту та меркурію показало, що через 4 год після введення солей металів в організм обидва чинники призводять до зниження цього показника (табл. 5). Таким чином, можна зробити висновок про те, що збереження підвищеної активності ТАТ через добу після введення

хлоридів кобальту та меркурію є наслідком зниження активності убіквітинової системи деградації білків за умов оксидативного стресу.

ВИСНОВКИ. 1. Введення в організм щурів хлоридів кобальту та меркурію спричиняє підвищення активності ТАТ, що зареєстровано протягом доби дії зазначених чинників.

2. Підвищення активності ТАТ у початковий період дії хлоридів кобальту та меркурію відбувається шляхом синтезу ферменту *de novo*, що може свідчити про його індукцію під дією глюкокортикоїдів.

3. Механізм збереження підвищеної активності ТАТ через добу після введення солей зазначених металів може полягати в зменшенні швидкості процесу деградації апоферменту за допомогою убіквітинзалежної білокдеградуючої системи.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дубинина Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса // *Вопр. мед. химии.* – 2001. – **47**, № 6. – С. 561-581.

2. Калиман П.А., Бараннік Т.В., Боріков О.Ю. та ін. Оксидативний стрес і регуляція антиоксидантного захисту в механізмах адаптації метаболізму в екстремальних умовах // *Матеріали Міжнародної наукової конференції "Каразінські природознавчі студії"* (14-16 червня 2004 р., Харків). – Харків, 2004. – С. 228-229.

3. Калиман П.А., Охрименко С.М. Влияние хлорида ртути на активность тирозинаминотрансферазы и некоторые стороны азотистого и углеводного обмена в печени крыс // *Актуальные проблемы медицины и биологии.* – 2003. – № 1. – С. 416-422.

4. Калиман П.А., Охрименко С.М. Цикл глюкозациклических кислот при оксидативном стрессе у крыс, вызванном хлоридом кобальта // *Укр. біохім. журн.* – 2005. – **77**, № 2. – С. 154-158.

5. Калиман П.А., Шаламов Р.В., Загайко А.Л. Влияние хлорида кобальта на спектр липидов, спектр и состав липопротеинов крови и цитозоля печени // *Биохимия.* – 1997. – **62**, № 7. – С. 850-857.

6. Мертвцов Н.П. Регуляция экспрессии генов стероидными гормонами. – Новосибирск: Наука, 1990. – 262 с.

7. Охрименко С.М., Гурьева Н.Ю., Калиман П.А. Адаптация ферментов липидного и азотистого обмена у крыс при оксидативном стрессе, вызванном солями кобальта и ртути // *Вестник Харьков-*

ского университета. Серия: Биология. – 2005. – № 1-2. – С. 56-60.

8. Саприн А.Н., Калинина Е.В. Окислительный стресс и его роль в механизмах апоптоза и развития патологических процессов // *Усп. биол. химии.* – 1999. – **39**. – С. 289-326.

9. Трахтенберг И.М., Коршун М.Н. Ртуть и ее соединения в окружающей среде. – К: Вища школа, 1990. – 231 с.

10. Фоломеев В.Ф. Фотокolorиметрический ультрамикрометод количественного определения сульфгидрильных групп белков и небелковых соединений крови // *Лаб. дело.* – 1981. – № 1. – С. 33-35.

11. Ciechanover A., Hargrove J.L., Gross-Mesilaty S. Ubiquitin-mediated degradation of tyrosine aminotransferase (TAT) in vitro and in vivo // *Mol. Biol. Rep.* – 1997. – **24**, № 1-2. – P. 27-33.

12. Girotti A.W. Lipid hydroperoxide generation, turnover and effector action in biological systems // *J. Lipid Res.* – 1998. – **39**, № 8. – P. 1529-1542.

13. Hershko A., Ciechanover A. The Ubiquitin system // *Ann. Rev. Biochem.* – 1998. – **67**. – P. 425-479.

14. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. et al. Protein measurement with Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* – 1951. – **193**. – P. 265-275.

15. Maines M.D., Kappas A. Metals as regulators of heme metabolism // *Science.* – 1977. – **198**, № 4323. – P. 1215-1221.

16. Schepard B. New Method for Assay of Tyrosine Transaminase // *Analyt. Biochem.* – 1969. – **30**. – P. 443-448.

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ТИРОЗИНАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ ПЕЧЕНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА

С.М. Охрименко

ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. В.Н. КАРАЗИНА

Резюме

Изучена активность тирозинаминотрансферазы печени крыс в динамике при оксидативном стрессе, вызванном введением в организм хлоридов кобальта или ртути. Установлено активирующее действие солей данных металлов на фермент на протяжении суток. Использование актиномицина D показало, что возрастание активности тирозинаминотрансферазы в первые часы после введения солей металлов происходит путём синтеза фермента *de novo*. Сохранение повышенной активности фермента через сутки может быть связано с уменьшением скорости его деградации. Обсуждаются механизмы регуляции активности тирозинаминотрансферазы в условиях оксидативного стресса.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: тирозинаминотрансфераза, оксидативный стресс, хлорид кобальта, хлорид ртути, печень, крыса.

REGULATION OF LIVER TYROSINE AMINOTRANSFERASE ACTIVITY IN RAT UNDER OXIDATIVE STRESS

S.M. Okhrimenko

KHARKIV NATIONAL UNIVERSITY BY V.N. KARAZIN

Summary

The dynamics of liver tyrosine aminotransferase activity in rat under oxidative stress induced by the introduction of cobalt or mercury chlorides in to the organism was studied. An activating effect of these salts on the enzyme within 24 hours was revealed. The introduction of actinomycin D has shown that increase of tyrosine aminotransferase activity during the first hours after the introduction of these salts occurred by means of enzyme synthesizing *de novo*. The maintenance of increased activity of this enzyme in 24 hours can be related to slowing of its decay. Mechanisms of tyrosine aminotransferase activity regulation under oxidative stress are discussed.

KEY WORDS: tyrosine aminotransferase, oxidative stress, cobalt chloride, mercury chloride, liver, rat.

Отримано 01.03.2006 р.

Адреса для листування: С.М. Охріменко, вул. Заводська, 45, кв. 2, Харків, 61009, Україна.

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

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ФЛУПРОПІОНАТУ НА АКТИВНІСТЬ СИРОВАТКОВИХ ФЕРМЕНТІВ ТА ВМІСТ ЗАГАЛЬНОГО БІЛКА КРОВІ У ЩУРІВ З АД'ЮВАНТНИМ ПОЛІАРТРИТОМ

Н.Л. Березнякова, С.Б. Попов
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Наведено результати дослідження впливу флупропіонату і препарату порівняння "Наклофен" (КРКА, Словенія) на активність сироваткових ферментів та вміст загального білка крові на моделі експериментального ад'ювантного поліартрититу, який викликали шляхом уведення 0,1 мл ад'юванту Фрейнда. Досліджувані речовини вводили перорально у дозах DE_{50} . Отримані дані свідчать про наявність значної протизапальної дії флупропіонату і його інгібувального впливу на активність кислій фосфатази та кісткового ізоферменту лужної фосфатази.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ад'ювантний поліартрит, протизапальна дія, кисла та лужна фосфатази, лактатдегідрогеназа.

ВСТУП. У літературі є дані про те, що при ад'ювантному поліартриті зростає активність сироваткових ферментів крові, власне кислих гідролаз лізосом, лактатдегідрогенази, лужної фосфатази [7]. Як відомо, лужна фосфатаза має два основних ізоферменти: печінковий та кістковий. Залежно від тяжкості запального процесу може розвинути епіфізеоліз кісток з подальшим розвитком анкілозу [8]. Останнім часом велика кількість робіт присвячена створенню нових препаратів протиревматичної дії [3, 9]. Однак досі активність сироваткових ферментів та гідролаз лізосом не було достатньо вивчено [6].

Виходячи з цього, метою дослідження було вивчення впливу флупропіонату і наклофену на загальну активність лужної та кислій фосфатаз, лактатдегідрогенази та вміст загального білка крові у щурів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на 40 щурах масою 180-200 г. В експерименті тварин було поділено на 4 групи (по 10 у кожній):

- 1-ша група – інтактні тварини (контроль);
- 2-га група – тварини з ад'ювантним поліартритом без лікування (автоконтроль);
- 3-тя група – тварини з ад'ювантним поліартритом, ліковані флупропіонатом;

© Н.Л. Березнякова., С.Б. Попов, 2006.

4-та група – тварини з ад'ювантним поліартритом, ліковані рефренс-препаратом "Наклофен" (КРКА, Словенія).

Ад'ювантний поліартрит моделювали шляхом субплантарного введення щурам 0,1 мл ад'юванту Фрейнда у вигляді суспендованої вакцини BCG в олії [5]. Динаміку ад'ювантного поліартрититу оцінювали за загальним станом тварин та гематологічними показниками крові.

Флупропіонат вводили перорально щоденно в дозі 16,4 мг/кг, наклофен – у дозі 14,6 мг/кг 1 раз на день протягом двох тижнів.

Активність лужної та кислій фосфатаз визначали за методом Боданського [4]; кістковий ізофермент лужної фосфатази – за методом Б.Я. Власова [1]; лактатдегідрогеназу – за методом S. Natelson (в модифікації) [10]; кількість загального білка в сироватці крові – за допомогою біуретової реакції [2].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Досліди показали, що у щурів з ад'ювантним поліартритом протягом усього періоду спостережень активність кислій фосфатази значно підвищувалась порівняно з інтактними тваринами (табл. 1). Однак ступінь зростання рівня цього ферменту був неоднаковим. Так, у групі щурів з ад'ювантним поліартритом без лікування він складав (54,2 1,9) од. Бод., в групі інтактних тварин – (24,2 2,9) од. Бод., а в групі щурів з ад'ювантним поліартритом, яких лікували

флупропіонатом, активність кислої фосфатази знижувалась та до 14 дня наближалась до значень контрольної групи тварин.

На відміну від кислої фосфатази, активність лужної фосфатази при ад'ювантному поліартриті мала тенденцію до зростання в пізніші терміни захворювання (група автоконтролю). Слід відзначити, що статистично значимих результатів впливу флупропіонату і препарату порівняння "Наклофену" на її активність при лікуванні ад'ювантного поліартрити не отримано (табл. 2).

Якщо активність лужної фосфатази практично не відрізнялась як у інтактних тварин, так і при запаленні, то активність її кісткового ізоферменту поступово змінювалась. При ад'ювантному поліартриті до 14-го дня захворювання в групі тварин без лікування активність кісткового ізоферменту лужної фосфатази вірогідно зростала ($p < 0,05$). При лікуванні ад'ювантного поліартрити наклофеном та флупропіонатом активність ферменту знижувалась до вихідних значень (табл. 1).

Під час вивчення активності лактатдегідрогенази та вмісту загального білка у тварин з ад'ювантним поліартритом без лікування та при

лікуванні флупропіонатом і наклофеном будь-яких закономірностей не виявлено. Активність лактатдегідрогенази у щурів з ад'ювантним поліартритом незначно підвищувалася порівняно з інтактними, однак дані статистично не вірогідні. Наклофен та флупропіонат суттєво не впливали на активність лактатдегідрогенази протягом усього часу спостереження (табл. 2).

Таким чином, результати проведених досліджень засвідчують, що активність кислої фосфатази та кісткового ізоферменту лужної фосфатази змінювалась при ад'ювантному поліартриті без лікування. Активність лужної фосфатази, лактатдегідрогенази, а також вміст загального білка в сироватці крові тварин практично не змінювались.

ВИСНОВКИ. 1. Доведено, що однією із складових механізму протиревматичної дії флупропіонату є наявність інгібуючого впливу на активність кислої фосфатази та кісткового ізоферменту лужної фосфатази.

2. Наведені результати свідчать про наявність значної протизапальної дії флупропіонату та можуть розглядатися при комплексному лікуванні ад'ювантного поліартрити.

Таблиця 1 – **Активність сироваткових ферментів у тварин з ад'ювантним поліартритом**

Група тварин	Дні спостережень	Кисла фосфатаза, од. Бод.	Лужна фосфатаза, од. Бод.	Кістковий ізофермент, %
Інтактні тварини (контроль)	–	24,2±2,3	19,8±4,3	65,2±0,4
Ад'ювантний поліартрит без лікування (автоконтроль)	3	46,4±4,3*	12,6±5,7	94,2±0,7*
	7	48,2±2,1*	17,0±6,2	93,8±1,3*
	14	54,2±1,9*	22,2±6,7	93,6±0,9*
Ад'ювантний поліартрит, лікований флупропіонатом	7	37,5±1,9*	16,2±4,2	81,0±1,6*
	14	28,4±2,0	18,0±6,4	66,2±0,7
Ад'ювантний поліартрит, лікований наклофеном	7	38,2±1,2*	16,4±4,4	71,6±2,0*
	14	33,6±2,2*	18,8±5,3	65,6±1,2

Примітки:

1. од. Бод. – одиниця Боданського.

2. * – розбіжність, порівняно з групою інтактних тварин, вірогідна ($p < 0,05$).

Таблиця 2 – **Вплив флупропіонату і наклофену на активність лактатдегідрогенази та вміст загального білка в сироватці крові щурів при ад'ювантному поліартриті**

Група тварин	Дні спостережень	Лактатдегідрогеназа, мкмоль/год	Загальний білок, г/л
Інтактні тварини (контроль)	–	3,36±0,04	88,0±2,6
Ад'ювантний поліартрит без лікування (автоконтроль)	3	3,44±0,06*	84,0±3,4
	7	3,38±0,09*	78,0±5,3
	14	3,40±0,07	80,0±4,4
Ад'ювантний поліартрит, лікований флупропіонатом	7	3,32±0,04*	78,0±4,3
	14	3,42±0,05	76,0±2,6
Ад'ювантний поліартрит, лікований наклофеном	7	3,34±0,06*	82,0±3,7
	14	3,44±0,03	78,0±2,9

Примітка. * – розбіжність, порівняно з групою інтактних тварин, не вірогідна ($p > 0,05$).

ЛІТЕРАТУРА

1. Власов Б.Я., Войтович Т.Г. К методике определения активности костного изофермента щелочной фосфатазы в сыворотке крови // Реабилит. и инвалидность от травм. – Иркутск, 1989. – С. 96-97.
2. Кушманова О.Д., Ивченко Г.М. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. – М.: Медицина, 1983. – 272 с.
3. Михеев С.М. Применение местных средств в ревматологии // Русс. мед. журн. – 2001. – 8, № 7. – С. 28-32.
4. Определение активности щелочной и кислой фосфатаз в сыворотке крови по гидролизу бета-глицерофосфата (метод Боданского) // Приказ МЗ СССР № 290 "Об унификации клинических лабораторных методов исследования". – М., 1972. – С. 95.
5. Сиггиа С., Ханна Д.Г. Количественный органический анализ по функциональным группам. – М.: Химия, 1983. – 672 с.
6. Hawker G.J. Prescribing nonsteroidal anti-inflammatory drugs – what's new? // Rheumatol. – 1997. – 24, № 2. – P. 243-245.
7. Miyata T., Ishiguro N. Increased pentosidin, an advanced glycation end produkt, in plasma and synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis and its relation with inflammatory markers // Biochem. and Biophys. Res. Commun. – 1998. – 244, № 1. – P. 45-49.
8. Sevell K.L., Trentham D.E. Pathogenesis of rheumatoid arthritis // Lancet. – 1996. – 341. – P. 283-290.
9. Van Hecken A., Schwartz J.I., Depre M. et al. Comparative inhibitory activity of rofecoxib, meloxicam, diclofenac, ibuprofen and naproxen on cox-2 versus cox-1 in healthy volunteers // J. Clin. Pharmacol. – 2000. – 40. – P. 1109-1120.
10. Wadnok R., Capell H.A. Outstanding tissues in use of disease – modifying agents in rheumatoid arthritis // Lancet. – 1999. – 353. – P. 257-258.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ФЛУПРОПИОНАТА НА АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТОЧНЫХ ФЕРМЕНТОВ И СОДЕРЖАНИЕ ОБЩЕГО БЕЛКА КРОВИ У КРЫС С АДЬЮВАНТНЫМ ПОЛИАРТРИТОМ

Н.Л. Березнякова, С.Б. Попов
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Представлены результаты исследования влияния флупропионата и препарата сравнения "Наклофен" (KRKA, Словения) на активность сывороточных ферментов и содержание общего белка крови на модели экспериментального адьювантного полиартрита, который вызывали путем введения 0,1 мл адьюванта Фрейнда. Исследуемые вещества вводили перорально в дозах DE_{50} . Полученные данные свидетельствуют о наличии значительного противовоспалительного действия флупропионата и его ингибирующего влияния на активность кислой фосфатазы и костного изофермента щелочной фосфатазы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: адьювантный полиартрит, противовоспалительное действие, щелочная и кислая фосфатазы, лактатдегидрогеназа.

EXPERIMENTAL STUDY OF FLUPROPYONAT INFLUENCE ON SERUM ENZYME ACTIVITY AND CONTENTS OF GENERAL BLOOD ALBUMEN IN RATS WITH ADJUVANT POLYARTHRITIS

N.L. Bereznyakova, S.B. Popov
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

Summary

The results of influence of flupropyonat and preparation of comparison "Naclofen" (KRKA, Slovenia) on activity of serum enzymes and contents of general blood albumen on the model of experimental adjuvant polyarthritis, which was caused by introduction of 0,1 ml of Freynd's adjuvant are represented. The studied matters were administered entered per os in doses DE_{50} . The results obtained testify to the presence of considerable antiinflammatory activity of flupropyonat and its inhibitory influence on activity of acid phosphatase and bone iso enzyme alkaline phosphatase.

KEY WORDS: adjuvant polyarthritis, antiinflammatory action alkaline and acid phosphatase, laktatdehydrogenase.

Отримано 15.10.2005 р.

Адреса для листування: Н.Л. Березнякова, вул. Дарвіна, 12, кв. 34, Харків, 61002, Україна.

АЛКІЛУВАННЯ, АРИЛЮВАННЯ І ГЕТЕРИЛЮВАННЯ 5-(ПІРИДИН-2-ІЛ)-4-R-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОНІВ ТА ЇХ БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ

С.М. Куліш, Є.Г. Книш, О.І. Панасенко
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Здійснено синтез нових 5-(піридин-2-іл)-4-R-1,2,4-триазол-3-тіонів и 3-(алкілтіо, арилтіо, гетерилтіо)-5-(піридин-2-іл)-4-R-1,2,4-триазолів. Будову отриманих сполук підтверджено за допомогою елементного аналізу, ІЧ-спектроскопії, а їх індивідуальність – тонкошарової хроматографії. Вивчено гостру токсичність, протимікробну та протигрибкову активність синтезованих сполук.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: 1,2,4-триазоли, біологічна активність.

ВСТУП. Як відомо з літературних джерел [2, 3, 4, 5], похідні 1,2,4-триазолу являють собою нетоксичні або малотоксичні [3, 7] речовини, які можуть бути основою для створення лікарських засобів. Тому ми вважали за доцільне провести реакції алкілування, арилювання та гетерилювання 5-(піридин-2-іл)-4-R-1,2,4-триазол-3-тіонів і вивчити біологічну активність отриманих сполук.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для проведення експерименту нами був синтезований 5-(піридин-2-іл)-4-N-1,2,4-триазол-3-тіон (I а) та ресинтезований 4-феніл-5-(піридин-2-іл)-4-N-1,2,4-триазол-3-тіон (I б) (табл. 1) [2]. Сполуки (I а, б) отримано шляхом циклізації у лужному водному розчині відповідного 2-(2-піридил)-1-гідразинокарбтіоаміду або 2-(2-піридин)-N-феніл-1-гідразинокарбтіоаміду за методикою, наведеною в літературі [6].

Сполуки (I а, б) являють собою кристалічні речовини білого кольору, важкорозчинні у воді, розчинні в лугах, кислотах та органічних розчинниках. Для аналізу тіони (I а, б) було очищено шляхом перекристалізації з ізопропанолу.

Алкілування тіону (I а) було проведено з етилом йодистим, пропілом йодистим, ізопропілом йодистим, амілом бромістим, гептилом йодистим, октилом бромістим, нонілом йодистим та децилом хлористим. Алкілування тіону (I б) – з пропілом йодистим, октилом бромістим, нонілом йодистим, децилом хлористим та циклогексаном хлористим. Арилювання

тіону (I а) – з 2,4-динітрохлорбензолом. Гетерилювання тіону I а – з 2-хлорпіридином.

Після проведення алкілування, арилювання та гетерилювання сполук (I а, б) отримано такі речовини: 3-(алкілтіо)-5-(піридин-2-іл)-4-R-1,2,4-триазоли (II а-з, II л-о), 3-(2,4-динітрофенілтіо)-5-(піридин-2-іл)-1,2,4-триазол (II к), 3-(2-піридилтіо)-5-(піридин-2-іл)-1,2,4-триазол (II і) (див. табл. 1).

Одержані сполуки являють собою кристалічні речовини білого (II а-і, II л-п) та жовтого (II к) кольору, важкорозчинні у воді, розчинні в органічних розчинниках. Для аналізу сполуки (II а-і, II л-п) перекристалізовано із суміші "етанол-вода" (5:1), а сполуку (II к) – із суміші "диметілформамід-вода" (1:1).

Будову синтезованих речовин підтверджено за допомогою елементного аналізу (див. табл. 1) та ІЧ-спектроскопії [1], а їх індивідуальність – тонкошарової хроматографії.

Було вивчено гостру токсичність, протимікробну, протигрибкову та діуретичну активність синтезованих сполук. При цьому встановлено, що вказані сполуки проявляють помірну протимікробну активність, але не перевищують еталони порівняння (фурацилін та етакридину лактат).

Експериментальна частина

5-(піридин-2-іл)-4-N-1,2,4-триазол-3-тіон (I а, див. табл. 1)

До 30 мл 5 % водного розчину гідроокису натрію додають 0,01 М 2-(2-піридил)-1-гідразинокарбтіоаміду. Суміш кип'ять 1 год, додають ацетатної кислоти до рН=7, сполуку I а відфільтровують.

© С.М. Куліш, Є.Г. Книш, О.І. Панасенко, 2006.

4-феніл-5-(піридин-2-іл)-4Н-1,2,4-триазол-3-тіон (I б, див. табл. 1)

До 30 мл 5 % водного розчину гідроокису натрію додають 0,01 М 2-(2-піридин)-N-феніл-1-гідразинокарбтоаміду. Суміш кип'ятять 1 год, додають ацетатної кислоти до рН=7, сполуку I б відфільтровують.

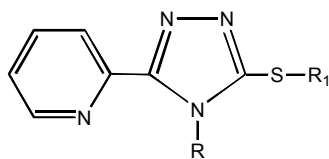
3-(алкілтію, арилтію, гетерилтію)-5-(піридин-2-іл)-4-R-1,2,4-триазоли (II а-п, див. табл. 1)

Суміш 0,01 М тіону (I а, б), 0,01 М NaOH та 0,01 М відповідного галогеналкану, 2,4-динітрохлорбензолу або 2-хлорпіридину в 30 мл спирту кип'ятять до нейтрального середовища, фільтрують, фільтрат випаровують, отримують речовини (II а-п).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. В ІЧ-спектрах сполуки (I а) наявні смуги поглинання NH- у межах 3550-3500 см⁻¹. В ІЧ-спектрах сполук (I б, II л-п) виявлено чіткі смуги у межах 1620-1550 см⁻¹, що свідчить про наявність С₆Н₅-груп, а в ІЧ-спектрах сполуки (II к) наявні смуги поглинання О₂N-груп – 1510 см⁻¹. У сполук (I а, II а-к) смуги поглинання С₆Н₅-групи відсутні. У сполук (I б, II л-п) смуги поглинання NH-групи відсутні.

Встановлено, що сполуки (I а, б) та сполуки (II а-п) є малотоксичними або нетоксичними. Їх LD₅₀ перебуває в межах 410-1950 мг/кг при внутрішньочеревному введенні білим мишам. Досліджувані речовини (I а, б, II а-п) проявляють

Таблиця 1 – **5-(піридин-2-іл)-4-R-1,2,4-триазол-3-тіони (I а, б) та 3-(алкілтію, арилтію, гетерилтію)-5-(піридин-2-іл)-4-R-1,2,4-триазоли (II а-п)**



№ сполуки	R	R ₁	T пл., °C	Бруто-формула
I а	H	H	245-247	C ₇ H ₆ N ₄ S
I б	C ₆ H ₅	H	224-226	C ₁₃ H ₁₀ N ₄ S
II а	H	C ₂ H ₅	108-110	C ₉ H ₁₀ N ₄ S
II б	H	C ₃ H ₇	95-97	C ₁₀ H ₁₂ N ₄ S
II в	H	C ₃ H ₇ -i	131-133	C ₁₀ H ₁₂ N ₄ S
II г	H	C ₅ H ₁₁	95-97	C ₁₂ H ₁₆ N ₄ S
II д	H	C ₇ H ₁₅	78-80	C ₁₄ H ₂₀ N ₄ S
II е	H	C ₈ H ₁₇	94-96	C ₁₅ H ₂₂ N ₄ S
II ж	H	C ₉ H ₁₉	85-87	C ₁₆ H ₂₄ N ₄ S
II з	H	C ₁₀ H ₂₁	82-84	C ₁₇ H ₂₆ N ₄ S
II і	H	2-піридил	330 розкл.	C ₁₂ H ₉ N ₅ S
II к	H	2,4-динітрофеніл	250-252	C ₁₃ H ₈ N ₆ O ₄ S
II л	C ₆ H ₅	C ₃ H ₇	122-124	C ₁₆ H ₁₆ N ₄ S
II м	C ₆ H ₅	C ₈ H ₁₇	59-61	C ₂₁ H ₂₆ N ₄ S
II н	C ₆ H ₅	C ₉ H ₂₁	48-50	C ₂₂ H ₂₈ N ₄ S
II о	C ₆ H ₅	C ₁₀ H ₂₁	56-58	C ₂₃ H ₂₉ N ₄ S
II п	C ₆ H ₅	циклогексил	208-210	C ₁₉ H ₂₀ N ₄ S

№ сполуки	Вирахувано, %		Знайдено, %		Вихід, %
	N	S	N	S	
I а	31,44	17,99	31,42	17,97	76,8
I б	22,05	12,59	22,03	12,60	96,6
II а	27,16	15,55	27,18	15,53	84,3
II б	25,43	14,56	25,41	14,53	89,6
II в	25,43	14,56	25,44	14,58	64,5
II г	22,56	12,91	22,54	12,89	60,5
II д	20,27	11,60	20,25	11,58	91,5
II е	19,29	11,04	19,27	11,03	84,3
II ж	18,40	10,53	18,42	10,55	95,4
II з	17,59	10,07	17,61	10,05	91,2
II і	27,43	12,56	27,44	12,57	76,3
II к	24,41	9,31	24,40	9,33	71,6
II л	18,92	10,81	18,89	10,78	84,5
II м	15,30	8,74	15,33	8,70	77,8
II н	14,74	8,42	14,78	8,39	94,7
II о	14,21	8,12	14,17	8,09	82,1
II п	16,67	9,52	16,63	9,55	83,4

помірну протимікробну і протигрибкову активність, але не перевищують еталони порівняння.

ВИСНОВОК. Синтезовано нові 5-(піридин-2-іл)-4-*R*-1,2,4-триазол-3-тіони (I а, б) та 3-(алкілтіо, арилтіо, гетерилтіо)-5-(піридин-2-іл)-4-

R-1,2,4-триазоли (II а-п). Будову отриманих сполук підтверджено за допомогою елементного аналізу ІЧ-спектроскопії, а їх індивідуальність – тонкошарової хроматографії. Вивчено гостру токсичність, протимікробну та протигрибкову активність синтезованих сполук.

ЛІТЕРАТУРА

1. Казицына Л.А., Куплетская Н.Б. Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии. – М.: Высшая школа, 1971. – 264 с.
2. Кшановский И.Т., Панасенко А.И., Кныш Е.Г., Лесничая А.Н. Синтез, физико-химические и биологические свойства *S*-замещенных 5-(2-пиридил)-4-фенил-1,2,4-триазолил-3-тиона // Запорожский медицинский журнал. – 2005. – Вып. 4. – С. 168-170.
3. Панасенко О.І. Синтез, перетворення, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 1,2,4-триазолу: Дис. ... д-ра фармац. наук. – К., 2005. – 396 с.
4. Парченко В.В., Маковик Ю.В., Кныш Е.Г. и др. Изучение противомикробной и противогрибковой активности некоторых производных 5-гетарил-2,4-дигидро-1,2,4-триазол-3-тионов, 2-бензилден-1,2,4-триазоло-(3,4-В)-тиазол-3-2Н)-онов и бензил-иденгидразидов-5-гетарил-2,4-дигидро-1,2,4-триазол-3-

меркаптоуксусных кислот // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики. – Запоріжжя, 2004. – Вип. 12. – С. 72-76.

5. Парченко В.В., Панасенко А.И., Кныш Е.Г. Синтез и биологическая активность некоторых алкилпроизводных 5-фуран-2-ил-4-фенил-2,4-дигидро-1,2,4-триазол-3-тионов // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики. – Запоріжжя, 2005. – Вип. 14. – С. 263-266.

6. Pat. 2824325 France. Nouveaux derivatives d'azole ou de triazole, leur precede de preparation et leur application comme fungicides // D. Barbin, J. Weston (France). – Decl. 28.1.92, publ. 08.11.02.

8. Yale Harry L., Piala Josef J. Substituted 1,2,4,-triazoles and their compounds // J. Med. Chem. – 1966. – № 1. – P. 42-46.

АЛКИЛИРОВАНИЕ, АРИЛИРОВАНИЕ И ГЕТЕРИЛИРОВАНИЕ 5-(ПИРИДИН-2-ИЛ)-4-*R*-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТИОНОВ И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

С.Н. Кулиш, Е.Г. Кныш, А.И. Панасенко
ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Осуществлен синтез новых 5-(пиридин-2-ил)-4-*R*-1,2,4-триазол-3-тионов и 3-(алкілтіо, арилтіо, гетерилтіо)-5-(піридин-2-іл)-4-*R*-1,2,4-триазолов. Строение полученных соединений подтверждено при помощи элементного анализа, ИК-спектроскопии, а их индивидуальность – тонкослойной хроматографии. Изучено острую токсичность, противомикробную, противогрибковую активность синтезированных соединений.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **1,2,4-триазолы, биологическая активность.**

ALKALIZATION, ARILIZATION AND HETERILIZATION OF 5-(PYRIDIN-2-YL)-4-*R*-1,2,4-TRIAZOLE-3-THIONS

S.M. Kulish, Ye.H. Knysh, O.I. Panasenko
ZAPORIZHZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

The synthesis of new 5-(pyridin-2-yl)-4-*R*-1,2,4-triazole-3-thions and 3-(alkilthio, arilthio, heterilthio)-5-(pyridin-2-yl)-4-*R*-1,2,4- triazoles has been carried out. The structure of obtained substances has been proved by means of element analysis, IR-spectroscopy and their specificity – by means of thin-layer chromatography. The acute toxicity, antimicrobe, antifungus activities have been investigated.

KEY WORDS: **1,2,4-triazoles, biological activity.**

Отримано 01.02.2006 р.

Адреса для листування: Куліш С.М., 69098, вул. Пархоменка 24, кв. 59, м. Запоріжжя, Україна.

ВМІСТ СЕРОТОНІНУ В КРОВІ ХВОРИХ НА ЕПІЛЕПСІЮ

В.С. Доля, Є.В. Доля, Я.М. Нестерович

ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Визначали вміст серотоніну в крові хворих на епілепсію. Він коливався від 0,116 до 0,641 мкмоль/л. Після лазеротерапії перебував у межах 0,302-0,812 мкмоль/л. Ці показники корелювались із кількістю судомних нападів і вмістом 5-оксііндолілоцтової кислоти в сечі хворих.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: серотонін, 5-оксііндолілоцтова кислота, епілепсія.

ВСТУП. Серотонін (5-гідрокситраптамін, 5-НТ) поширений у рослинах, тваринах і людині [6]. Серотонінергічна нейрональна система репрезентована численними нейронами ядер центральної сірої речовини, шва стовбура і середнього мозку та широкої мережі аксонів, що проектується в різні структури головного і спинного мозку [1]. Сучасна класифікація серотонінових рецепторів базується на особливостях їх структури, наявності вторинного посередника, характері зв'язку з ним, фармакологічному профілі. За сучасною класифікацією виділяють 7 популяцій серотонінових рецепторів: 5-НТ_{1A}, 5-НТ_{1B}, 5-НТ_{1D}, 5-НТ_{1E}, 5-НТ_{1F}, 5-НТ_{2A}, 5-НТ_{2B}, 5-НТ_{2C}, 5-НТ₃, 5-НТ₄, 5-НТ₅, 5-НТ₆, 5-НТ₇ [7]. Інактивується серотонін декількома шляхами, але найбільше значення має метаболічний. Він являє собою окисне дезамінування з утворенням 5-оксііндолілоцтової кислоти (5-ОІОК). Першою стадією в цьому процесі є відщеплення аміаку з утворенням 5-оксііндолілацетальдегіду, який каталізується моноамінооксидазою (МАО). Потім 5-оксііндолілацетальдегід перетворюється у 5-ОІОК, яка є окремим продуктом обміну серотоніну [5]. Існують і інші шляхи катаболізму серотоніну. Вони передбачають глюкуронірування, сульфатування, метилування і диметилування. У результаті утворюються п-метилсеротонін і буфотенін. Вони проявляють психопатологічну активність, зокрема галюциногенні властивості. Однак найбільша кількість серотоніну перетворюється з утворенням 5-ОІОК. Таким шляхом руйнується до 90 % серотоніну [5]. У зв'язку

з цим, на підставі аналізу кількісного вмісту серотоніну і 5-ОІОК можна робити висновок про інтенсивність метаболізму цього медіатора. З цією метою було запропоновано так званий катаболічний коефіцієнт. Він дорівнює відношенню 5-ОІОК/серотонін. Чим більша концентрація 5-ОІОК, порівняно із серотоніном, тим вищий катаболічний коефіцієнт і тим інтенсивніше розпадається серотонін. Чим менший метаболічний коефіцієнт, тим більше серотоніну синтезується і депонується. Підвищення вмісту серотоніну в мозку, а також дія серотонінергічних препаратів 5-окситриптофану і мексаміну приводять до послаблення експериментального судомного нападу [4].

На противагу цьому резерпін і резерпіноподібні речовини викликають зниження кількості серотоніну в мозку і тим самим підвищують чутливість до судомних агентів.

Багато дослідників визначали вміст серотоніну в крові хворих на епілепсію. Але їх дослідження нерідко суперечливі. Так, Ф.Г. Ветрогон [2] стверджує, що концентрація серотоніну в крові хворих на епілепсію вища, ніж у здорових осіб, а О.З. Голубков [3] повідомляє, що в міжнападний період у всіх хворих на епілепсію вміст серотоніну значно знижений порівняно зі здоровими особами. Крім того, відомості про вміст серотоніну в крові хворих на важкокурабельну форму епілепсії після лазеротерапії в літературі відсутні. У зв'язку з цим, в роботі була поставлена мета вивчити вміст серотоніну і 5-ОІОК у хворих на важкокурабельну судомну форму епілепсії.

© В.С. Доля, Є.В. Доля, Я.М. Нестерович, 2006.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 20 хворих (7 чоловіків і 13 жінок) віком від 19 до 57 років. Кожен пацієнт одержав 10 сеансів низькоінтенсивного лазерного опромінення апаратом "Оріон". Після першого й десятого сеансів у крові хворих визначали вміст серотоніну за методикою Данглиш То Уэрк (1953), 5-ОІОК – за методикою Юденфренд, Вайсбах (1955). Моно- і біполярний запис на ЕЕГ здійснювали 16-канальним ЕЕГ апаратом "Оріон" (Угорщина). Електроди встановлювали за стандартною схемою 10-20 % із проекцією в лобових, центральних, скроневих, тім'яних і потиличних відведеннях двох сторін. Поряд із реєстрацією фонові ЕЕГ використали стандартні функціональні навантаження, а саме: фото- і фоностимуляції частотою 5-20 Гц, гіпервентиляцію тривалістю 120 с.

Фармакотерапію хворих проводили препаратами нового покоління – ламікталом і депакіном-хроно, а також традиційними – фенобарбіталом, фінлепсином, карбамазепином і т. ін. Кращі результати було отримано при лікуванні пацієнтів ламікталом, депакіном-хроно.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати дослідження наведено в таблиці 1. З неї видно, що 5 хворих мають більше 60 нападів на місяць, 6 – від 10 до 30, 9 – від 1 до 8. Це деякою мірою корелює з кількістю серотоніну в крові й 5-ОІОК у сечі. Так, хворий Р-о (№7) має більше 60 нападів на місяць, найнижчий рівень серотоніну в крові (0,116 мкмоль/л) і найменшу

кількість 5-ОІОК у сечі (0,234 мкмоль/л). Хворий К-й (№ 10) має найвищі показники серотоніну і 5-ОІОК при 8 епілептичних нападах на місяць. Середня кількість серотоніну в крові й 5-ОІОК у сечі всіх хворих після лазеротерапії збільшилась на (20,69±0,28) і (27,86±0,34) % відповідно, а кількість епілептичних нападів у всіх пацієнтів зменшилась. Так, у 4 хворих їх не зареєстровано, у 10 осіб вони зменшились на 75 %, у 5 – на 50 %, в одного – на 25 %.

Результати ЕЕГ-обстеження показали, що на початку курсу лікування лазеротерапія проявляла тонізуючий ефект на нейродинаміку. При цьому посилення пароксизмальної активності спостерігалось на монополярному записі ЕЕГ. Після десятого сеансу лазеротерапії на ЕЕГ хворих відмічали зниження пароксизмальної активності.

Катаболічний коефіцієнт не залежав від лазеротерапії і дорівнював приблизно двом одиницям до лазеротерапії і після десятого її сеансу.

ВИСНОВКИ. 1. До лазеротерапії кількість епілептичних нападів у хворих деякою мірою перебуває в корелятивному зв'язку із вмістом серотоніну в крові й 5-ОІОК у сечі.

2. Вміст серотоніну в крові й 5-ОІОК у сечі всіх хворих після лазеротерапії збільшився, відповідно, на (20,69±0,28) і (27,86±0,34) %.

3. У результаті лазеротерапії кількість епілептичних нападів в усіх хворих зменшилась, а у 4 пацієнтів нападів не зареєстровано.

Таблиця 1 – Клінічна і біохімічна характеристика хворих

№ за/п	Пацієнт	Кількість нападів на місяць		Вміст серотоніну, мкмоль/л		Вміст 5-ОІОК, мкмоль/л	
		До лазеротерапії	Після десятого сеансу	До лазеротерапії	Після десятого сеансу	До лазеротерапії	Після десятого сеансу
1	Б-а	3 в місяць	1 в 2 місяці	0,346	0,371	0,649	0,731
2	Ш-о	20 в місяць	Немає	0,362	0,710	0,941	1,521
3	С-к	3 в місяць	Немає	0,346	0,351	0,473	0,573
4	Лю-й	1-3 в місяць	1 в місяць	0,366	0,379	0,449	0,532
5	Ш-а	5-8 в місяць	4 в місяць	0,396	0,552	0,665	0,855
6	К-я	10 в місяць	1 в рік	0,289	0,462	0,572	0,969
7	Р-о	більше 60 в місяць	3 в місяць	0,116	0,302	0,234	0,608
8	Ф-к	10 в місяць	3 в місяць	0,378	0,462	0,712	0,912
9	К-к	24 в місяць	10 в місяць	0,289	0,308	0,589	0,617
10	Ф-а	8 в місяць	Немає	0,641	0,812	1,003	1,521
11	В-в	60 в місяць	1 в місяць	0,406	0,462	0,855	0,969
12	К-а	60 в місяць	1 в рік	0,371	0,412	0,712	0,798
13	Ф-ц	5-6 в місяць	3 в місяць	0,532	0,542	1,045	1,083
14	К-й	12 в місяць	3 в місяць	0,322	0,462	0,617	0,855
15	М-в	4 в місяць	3 в місяць	0,462	0,502	0,941	0,969
16	К-ь	2-3 в місяць	1 в місяць	0,371	0,385	0,769	0,855
17	Ли-й	12 в місяць	1 в 2 місяці	0,372	0,536	0,712	0,997
18	Д-о	60 в місяць	1 в 4 місяці	0,378	0,462	0,712	0,912
19	М-о	більше 60 в місяць	16 в місяць	0,322	0,371	0,632	0,722
20	Р-я	2 в місяць	Немає	0,326	0,538	0,761	0,941

ЛІТЕРАТУРА

1. Амелин А.В., Скоромец А.А., Игнатов Ю.Д. Роль серотонина и серотониновых рецепторов в патогенезе мигрени и механизмах действия антимигренозных препаратов // Журн. неврологии и психиатрии. – 2000. – № 7. – С. 55-58.
2. Ветрогон Ф.Г. Диагностическое значение исследований биогенных аминов у больных эпилепсией. Теоретические основы пат. состояний // Матер. Всесоюз. конф. "Теоретические основы оптимизации диагностики и лечения болезней нервной системы". – Ленинград, 1980. – С. 184-187.
3. Голубков О.З. О значении изменений в содержании серотонина, в системе ацетилхолин-холин-эстераза крови у больных эпилепсией // Журн. невропатологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 1972. – № 6. – С. 33-36.
4. Лапин И.П., Рыжов И.В. Рецепторы, вовлекаемые в возбуждающие эффекты кинуринов // Фармакол. и токсикол. – 1989. № 1. – С. 98-103.
5. Попова Н.К., Науменко Е.В., Колпаков В.Г. Серотонин и поведение // Новосибирск: Наука, сиб. Отделение, 1978. – 304 с.
6. Рудзит В.К. Триптофан (в норме и патологии). – Ленинград, 1973. – 83 с.
7. Schoenen J. Acute migraine therapy: the newer drugs // Curr. Opin. Neurol. – 1997. – № 10. – P. 237-243.

СОДЕРЖАНИЕ СЕРОТОНИНА В КРОВИ БОЛЬНЫХ ЭПИЛЕПСИЕЙ

В.С. Доля, Е.В. Доля, Я.М. Нестерович

ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Резюме

Определяли содержание серотонина в крови больных эпилепсией. Оно колебалось от 0,116 до 0,641 мкмоль/л. После лазеротерапии соответствовало 0,302-0,812 мкмоль/л. Эти показатели коррелировались с количеством судорожных припадков и содержанием 5-оксииндолилуксусной кислоты в моче больных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **серотонин, 5-оксииндолилуксусная кислота, эпилепсия.**

BLOOD CONTENTS OF SEROTONIN IN EPILEPSY PATIENTS

V.C. Dolya, Ye.V. Dolya, Ya.M. Nesterovych

ZAPORIZHZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY
TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA.HORBACHEVSKY

Summary

Blood contents of serotonin in epilepsy patients was determined. It ranged from 0,116 to 0,641 mmol/l. After lasertherapy it was 0,302-0,812 mmol/l. These values were correlated with quantity of seizures in epilepsy patients and urine contents of 5-oxyindolilacetic acid.

KEY WORDS: **serotonin, 5-oxyindolilacetic acid, epilepsy.**

Отримано 05.09.2005 р.

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

ВИВЧЕННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ЕКСТРАКТІВ ПІДЗЕМНИХ ТА НАДЗЕМНИХ ОРГАНІВ КРЕМЕНИ ГІБРИДНОЇ

Л.М. Грицик, Л.В. Бензель, І.О. Нектегаєв
ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

У статті представлено результати дослідження протизапальної активності екстрактів листків та кореневищ кремени гібридної на моделі набряку лапки щура, викликаного субплантарним введенням флогогенного агента.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: протизапальна активність, екстракти листків та кореневищ кремени гібридної, набряк лапки щура, флогогенний агент.

ВСТУП. Дослідження нових рослин, що широко розповсюджені на території України, дає можливість розширити асортимент фармакологічних засобів. Особливий інтерес для фармації представляють рослини, які здавна використовують у народній медицині. Велике значення має не лише вміст біологічно активних речовин, а також і достатня сировинна база. До таких рослин належить кремена гібридна (*Petasites hybridus* (L.)). Зовнішньо свіжі її листки використовують для загоювання ран і зменшення набряків, припарки з листків сприяють розкриттю наривів, знімають жар, почервоніння [5, 6].

У результаті проведених досліджень встановлено, що біологічно активні речовини сировини кремени гібридної представлені фенольно-полісахаридним комплексом [2, 3]. Нами розроблено спосіб екстракції суми біологічно активних речовин з підземних і надземних органів кремени гібридної, на який одержано патент України [1].

Метою роботи було вивчення антиексудативних властивостей сухих екстрактів кремени гібридної за умов експериментального набряку.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктами дослідження були водні та водно-спиртові сухі екстракти кореневищ і листків кремени гібридної. Дослідження протизапальної активності екстрактів підземних і надземних органів кремени

гібридної проводили за методикою Ф.П. Тринус і співавт. (1975). Досліди виконували на білих лінійних щурах-самцях масою 200-220 г. Для вивчення впливу одержаних екстрактів кремени гібридної на перебіг ексудативної фази запалення нами використовувалась модель набряку лапки щура, викликана субплантарним введенням флогогенного агента [7]. З цією метою під апоневроз підошви задньої лапки вводили 0,1 мл 2 % водного розчину формаліну. Об'єм лапки вимірювали до початку і в момент найбільшого розвитку набряку (5 год).

Розвиток набряку при формаліновому запаленні характеризувався помірним наростанням з максимумом вираження через 3-4 год після субплантарного введення подразника. У цей час у тварин розвинулися класичний місцевий набряк, гіперемія, хворобливість. Формалінове запалення широко використовують як метод оцінки протизапальної активності фармакологічних препаратів за умов експерименту [7].

Щурів було поділено на 7 груп по 6 тварин у кожній. За 2 год і відразу після введення флогогенного агента щурам 1-5 груп перорально вводили попередньо розчинені у воді водні та водно-спиртові екстракти кореневищ (БК-0, БК-4) та листків (БЛ-0, БЛ-4, БЛ-7) кремени гібридної в дозі 1000 мг/кг. Як еталонну речовину з відомою протизапальною дією 6 групі тварин вводили бутадіон у середньотерапевтичній дозі – 50 мг/кг. 7-ма група щурів лікування не отримувала. Вимірювання об'єму лапки здійснювали онкометрично до початку експерименту, через 1 год, через 3 год

© Л.М. Грицик, Л.В. Бензель, І.О. Нектегаєв, 2006.

Таблиця 1 – Антиексудативна активність екстрактів кремені гібридної

Приріст об'єму лапки, %			
Об'єкт дослідження	1 год	3 год	5 год
Контроль	32,6±1,9	54,6±3,9	63,3±4,2
БК-0	26,9±1,9	35,0±2,7	38,2±2,5
БК-4	28,6±3,8	42,6±3,7	46,4±2,8
БЛ-0	28,7±1,6	41,4±2,9	48,7±4,5
БЛ-4	28,2±2,5	38,6±3,3	45,0±2,8
БЛ-7	29,0±2,5	47,2±2,9	55,8±6,5
Бутадіон	23,9±2,6	24,9±1,4	24,3±2,0
Показник пригнічення запальної реакції, %			
	1 год	3 год	5 год
БК-0	17,4	35,9	39,8
БК-4	12,3	22,0	26,9
БЛ-0	12,0	24,2	23,3
БЛ-4	13,5	29,3	29,1
БЛ-7	11,0	13,6	12,1
Бутадіон	26,7	54,4	61,7

і в момент найбільшого розвитку набряку через 5 год.

Вплив екстрактів кремені гібридної оцінювали за здатністю пригнічувати набряк лапки щурів. Одержані показники оцінювали за допомогою статистичних методів аналізу із застосуванням критерію Стюдента [4]. У всіх групах тварин, які отримували лікування, протинабрякова активність була статистично вірогідною ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Одержані результати (табл. 1) свідчать про те, що протинабрякова дія екстрактів кремені гібридної спостерігалася вже через 1 год після початку лікування. Активність була різною залежно від виду введеного екстракту. В контрольній групі тварин, які не отримували лікування, набряк збільшувався протягом 5 год.

Протягом першої години запального процесу найкращу активність проявив водний екстракт кореневищ, який зменшував набряк, порівняно з контролем, на 17,4 %. Через 3 год

набряк продовжував знижуватися у всіх групах, крім групи, якій вводили водно-спиртовий екстракт листків (екстрагент – 70 % етанол), де пригнічення набряку становило лише 13,6 % порівняно з контролем. Через 5 год максимальне пригнічення запалення спостерігалось у тварин, яким вводили екстракти кореневищ (екстрагент – вода та 40 % етанол) та екстракт листків (екстрагент – 40 % етанол).

ВИСНОВКИ. 1. Результати досліджень показали, що сухі екстракти з підземних і надземних органів кремені гібридної проявляють протизапальну активність.

2. Найкращу антиексудативну активність проявляють водно-спиртові екстракти кореневищ і листків (екстрагент – 40 % етанол) та водні екстракти кореневищ кремені гібридної, вона становить 64,5, 47,1 та 43,6 % відповідно до активності бутадіону.

3. Отримані дані будуть використані при розробці нових препаратів з протизапальними властивостями.

ЛІТЕРАТУРА

1. Грицик Л., Капелюха А., Сребродольський О. Одержання екстрактів і фракцій біологічно активних речовин кремені гібридної та вивчення їх антимікробної активності // Ліки України. – 2005. – № 10. – С.115-116.
2. Грицик Л.М., Бензель Л.В. Вивчення полісахаридного комплексу кремені гібридної // Матеріали науково-практичної конференції "Створення, виробництво, стандартизація, фармакоекономіка лікарських засобів та біологічно активних доба-

вок". – Тернопіль, 2004. – С. 93-94.

3. Грицик Л.М., Бензель Л.В. Дослідження фенолкарбонових кислот рослин роду кремена // Мед. хімія. – 2005. – 7, № 4. – С. 27-29.

4. Лапач С.М., Чубенко А.В., Бабіч П.М. Статистичні методи в медико-біологічних дослідженнях із застосуванням Excel. – К.: МОПІОН, 2000. – 320 с.

5. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А.М. Гродзінський. – К.: Голов. ред. УРЕ, 1990. – С. 430-432.

6. Носаль І.М. Від рослини – до людини: розповіді про лікувальні та лікарські рослини України. – К.: Веселка, 1992-1995. – С. 133-134.

7. Тринус Ф.П., Мохорт Н.А., Клебанов Б.М. Нестероидные противовоспалительные средства. – К.: Здоров'я, 1975. – 240 с.

ИЗУЧЕНИЯ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТОВ ПОДЗЕМНЫХ И НАДЗЕМНЫХ ОРГАНОВ БЕЛОКОПЫТНИКА ГИБРИДНОГО

Л.М. Грицик, Л.В. Бензель, И.О. Нектегаев
ИВАНО-ФРАНКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

В статье представлены результаты исследования противовоспалительной активности экстрактов листьев и корневищ белокопытника гибридного на модели отёка лапки крысы, вызванного субплантарным введением флогогенного агента.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: противовоспалительная активность, экстракты листьев и корневищ белокопытника гибридного, отёк лапки крысы, флогогенный агент.

STUDY OF ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF EXTRACTS FROM UNDERGROUND AND OVERGROUND ORGANS OF PETASITES HYBRIDUS

L.M. Hrytsyk, L.V. Benzel, I.O. Nektegayev
IVANO-FRANKIVSK STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

The article demonstrates the results of the study of anti-inflammatory activity of the Petasites hybridus leaves and rhizomes extracts on the sample of the rat pad edema, that was stimulated by subplantaric injection of the flogogenic agent.

KEY WORDS: anti-inflammatory activity, extracts from leaves and rhizomes of Petasites hybridus, rat pad edema, flogogenic agent.

Отримано 17.03.2006 р.

Адреса для листування: Л.М. Грицик, Івано-Франківський державний медичний університет, кафедра фармації, вул. Галицька, 2, Івано-Франківськ, 76000, Україна.

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

ВИЗНАЧЕННЯ ЕЛЕМЕНТНОГО СКЛАДУ СУЦВІТТЯ РОСЛИН РОДУ АРНІКА

О.Л. Демидяк, І.В. Саска, С.М. Марчишин

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Вивчено елементний склад суцвіття арніки гірської та арніки листяної. Встановлено наявність 4 макро- (K, Na, Ca, Mg) і 11 мікроелементів (Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, Co, Pb, Cr, Sn, Cd, Au).

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **арніка гірська, арніка листяна, макро- і мікроелементи.**

ВСТУП. В останні роки в наукових літературних джерелах зустрічається багато інформації про елементний склад лікарських рослин [1, 3, 4, 6, 8], які використовують як у народній, так і в науковій медицині.

Макро- і мікроелементи відіграють важливу роль у життєдіяльності рослин, але не менш важливі вони для людського організму. Адже, вступаючи у сполуки з хімічними регуляторами обміну речовин, беруть участь у різноманітних біохімічних процесах у живих системах [5, 7].

Метою наших досліджень було вивчення елементного складу суцвіття дикорослого виду – арніки гірської і культивованого виду – арніки листяної.

Арніка листяна вирощена на колекційних ділянках ботанічного саду Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Вміст макро- і мікроелементів визначали методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії. Рослинні об'єкти озолювали парами нітратної кислоти з наступним розчиненням золи у хлоридній кислоті. Досліди виконували на атомно-абсорбційному спектрофотометрі марки С-115-М1, виготовленого ПО "Електрон". Вміст елементів К і Na вимірювали в емісійному режимі. Для кожного з елементів будували свій калібрувальний графік [2].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У результаті аналізу в досліджуваних суцвіттях арніки

виявлено 4 макро- (K, Ca, Na, Mg) та 11 мікроелементів, визначено їх якісний і кількісний склад.

Дані, наведені в таблиці 1, свідчать про багатий макро- і мікроелементний склад рослин роду Арніка. Спостерігається значна кількість макроелементів: натрію, кальцію, калію і магнію. У суцвіттях обох видів майже в однаковій кількості накопичується натрій; калію у суцвітті арніки листяної у 2,1 раза більше, ніж у суцвітті арніки гірської. У суцвіттях арніки є досить високий вміст калію, який перевищує вміст натрію в арніки гірської у 6,3 раза, а в арніки листяної – у 10,2 раза (рис. 1).

Враховуючи те, що головна роль калію в організмі людини і тварин – збереження нормального функціонування клітинних мембран і забезпечення клітинної рівноваги, можна вважати суцвіття арніки джерелом даного елемента і припустити використання її препаратів при захворюваннях серцево-судинної системи [7].

У суцвіттях обох видів арніки майже в однаковій кількості накопичуються такі макроелементи, як кальцій і магній (рис. 2). Вміст магнію в арніки гірської в 3,1 раза більший, ніж кальцію; в арніки листяної – в 3,4 раза.

У суцвіттях арніки є високий вміст феруму (18,02 мг/кг – у арніки гірської, 67,97 мг/кг – у арніки листяної) і мангану (98,1 мг/кг – у арніки гірської, 40,4 мг/кг – у арніки листяної), а також у значній кількості – купрум, цинк і кадмій. У мінімальній кількості в досліджуваній сировині накопичуються плумбум, хром, станум і аурум.

Накопичення хімічних елементів представлено у такій спадній залежності:

– для арніки гірської K>Mg>Na>Mn>Ca>Fe>Cd>Cu>Zn>Ni>Co>Au>Cr>Pb>Sn;
 – для арніки листяної K>Na>Mg>Fe>Ca>Cu>Mn>Zn>Cd>Cr>Co>Au>Ni>Pb>Sn.

ВИСНОВКИ. 1. Вивчено склад і порівняно вміст елементів арніки гірської та арніки листяної.

2. Встановлено, що суцвіття обох видів арніки містить 4 макро- і 11 мікроелементів.

Таблиця 1 – Елементний склад суцвіття арніки гірської та арніки листяної

№ з/п	Елемент	Кількісний вміст елементів, мг/кг	
		Суцвіття арніки гірської	Суцвіття арніки листяної
1	Натрій (Na)	132,04	171,40
2	Калій (K)	833,22	1744/23
3	Магній (Mg)	145,16	148,76
4	Кальцій (Ca)	47,14	43,70
5	Ферум (Fe)	18,02	67,97
6	Цинк (Zn)	3,04	3,26
7	Манган (Mn)	98,10	4,04
8	Купрум (Cu)	3,66	5,65
9	Нікол (Ni)	1,36	1,38
10	Кобальт (Co)	0,97	2,06
11	Плюмбум (Pb)	0,52	0,92
12	Хром (Cr)	0,67	2/21
13	Станум (Sn)	0,03	0,18
14	Аурум (Au)	0,96	1,77
15	Кадмій (Cd)	6,66	3,21

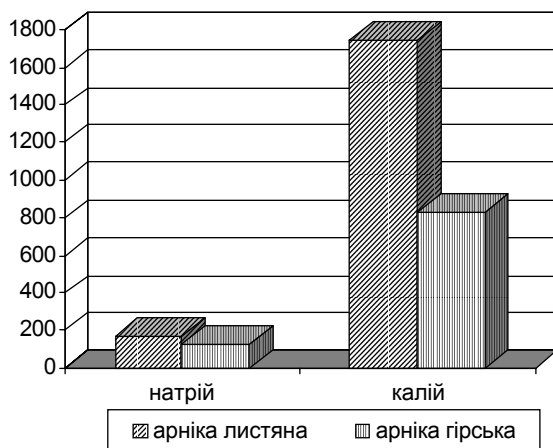


Рис. 1. Вміст натрію і калію у суцвіттях арніки гірської та арніки листяної.

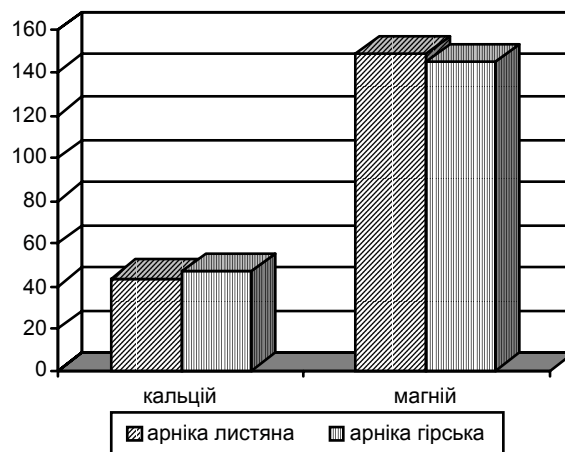


Рис. 2. Вміст кальцію і магнію у суцвіттях арніки гірської та арніки листяної.

ЛІТЕРАТУРА

1. Демешко О.В., Комісаренко А.М. Елементний склад листя *Robinia pseudoacacia* // Перспективи створення в Україні лікарських препаратів різної спрямованої дії: Матер. наук.-практ. семінару (26 листопада 2004 року, м. Харків) / За ред. проф. О.І. Тихонова. – Харків: Вид-во НфаУ, 2004. – С. 245-247.
 2. Ермаков А.И., Арисимович В.В., Ярошенко Н.П. и др. Методы биохимических исследований

растений / Под ред. А.И. Ермакова. – 3-е изд., перераб. и доп. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.
 3. Козлова Е.П., Краснікова Т.О., Картмазова Л.С. та ін. Деякі аспекти вивчення омели білої // Вісник фармації. – 2000. – № 3 (23). – С. 18-22.
 4. Литвиненко В.І., Попова Н.В., Кожух І.О. та ін. Вивчення амінокислотного та елементного складу роду Бадан // Вісник фармації. – 2000. – № 3 (23). – С. 14-17.

5. Ноздрюхина Л.Р. Биологическая роль микро-элементов в организме животных и человека. – М., 1986. – С. 184.

6. Ткаченко М.Ф. Вивчення елементного складу листя ендоспермальних мутантів кукурудзи // Перспективи створення в Україні лікарських препаратів різної спрямованої дії: Матер. наук.-практ. семінару (26 листопада 2004 року, м. Харків) / За ред. проф.

О.І. Тихонова. – Харків: Вид-во НфаУ, 2004. – С. 267-270.

7. Хухрянский В.Г., Цыганенко А.Я., Павленко Н.В. Химия биогенных элементов. – К.: Выща школа, 1990. – 191 с.

8. Шанайда М.І., Фіра Л.С., Вовчук О.О., Швидків О.С. Елементний склад надземної частини лопуху анасового та змієголовника молдавського // Мед. хімія. – 2005. – 7, № 2. – С. 62-65.

ИЗУЧЕНИЕ ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА СОЦВЕТИЙ РАСТЕНИЙ РОДА АРНИКА

О.Л. Демидьяк, И.В. Саска, С.М. Марчишин

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Изучен элементный состав соцветий арники горной и арники листовой. Установлено наличие 4 макро- (K, Na, Ca, Mg) и 11 микроэлементов (Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, Co, Pb, Cr, Sn, Cd, Au).

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **арника горная, арника листовая, макро- и микроэлементы.**

STUDY OF ELEMENT COMPOSITION OF FLOSCULES AT THE PLANTS OF ARNICA FAMILY

O.L. Demydyak, I.V. Saska, S.M. Marchyshyn

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA.HORBACHEVSKY

Element composition of floscules of Arnica montana and Arnica foliosa has been studied. The presence of 4 macro – (K, Na, Ca, Mg) and 11 microelements (Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, Co, Pb, Cr, Sn, Cd, Au) was fixed.

KEY WORDS: **Arnica montana, Arnica foliosa, macro- and microelements.**

Отримано 05.09.2005 р.

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

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

ВПЛИВ ФАКТОРІВ ЗОВНІШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА СУМСЬКОЇ ОБЛАСТІ НА МІНЕРАЛЬНИЙ СКЛАД ДОВГИХ КІСТОК ЩУРІВ У КОМБІНАЦІЇ ІЗ СТАТИЧНИМИ ФІЗИЧНИМИ НАВАНТАЖЕННЯМИ

А.Є. Шепелєв

СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Встановлено, що інтенсивні статичні фізичні навантаження разом із низькими дозами опромінення та вживанням солей важких металів негативно впливають на хімічний склад кісток. Навпаки, помірні статичні фізичні навантаження можуть частково корегувати дію несприятливих чинників зовнішнього середовища і їх можна використовувати для профілактики змін у скелеті.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: білі щури, великогомілкові кістки, солі важких металів, опромінення, статичні фізичні навантаження, макро- та мікроелементи.

ВСТУП. У зв'язку з погіршенням екологічної ситуації в Україні, зокрема у північних регіонах Сумської області, в ґрунті та питній воді спостерігається збільшення вмісту іонів міді, цинку, марганцю, свинцю, що є самостійними патогенетичними чинниками, здатними викликати зміни майже в усіх органах та системах. Підвищення радіаційного фону в цих районах додатково негативно впливає на організм [1, 2]. Фізичні навантаження відіграють важливу роль у реакції на шкідливі чинники навколишнього середовища [3, 4, 7].

МЕТОЮ НАШОЇ РОБОТИ було вивчення вмісту макро- та мікроелементів у кістках щурів після комбінованої дії малих доз іонізуючого випромінювання і солей важких металів на тлі помірних та інтенсивних статичних фізичних навантажень.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на 75 білих щурах-самцях 3-місячного віку. Піддослідних тварин було поділено на три експериментальні серії та одну контрольну. Першу серію експериментальних тварин (15 щурів) опромінювали на установці "Rocus" в загальній дозі 0,2 Гр протягом місяця. Одночасно щури отримували з питною водою солі цинку ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) – 0,5 мг/л та міді ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) – 1 мг/л, що відповідає Ямпільському району.

© А.Є. Шепелєв, 2006.

Тварин другої серії тренували протягом місяця опромінювали дозою 0,2 Гр і вводили солі марганцю ($MnSO_4 \cdot 5H_2O$) – 0,1 мг/л, свинцю ($Pb(CH_3COO)_2$) – 0,1 мг/л та міді ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) – 1 мг/л, що відповідає Середино-Будському району.

Треновані тварини третьої серії протягом місяця отримували опромінення в дозі 0,2 Гр і солі цинку ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) – 5 мг/л, хрому ($K_2Cr_2O_7$) – 0,1 мг/л і свинцю ($Pb(CH_3COO)_2$) – 0,1 мг/л, що відповідає Шосткинському району.

Контрольну серію поділено на 2 групи. 1-шу групу (15 тварин) склали інтактні щури віком 4 місяці. 2-га група (15 щурів) перебувала під впливом комбінованої дії радіації та солей важких металів без фізичних навантажень.

Моделювання статичних навантажень (СН) проводили на вертикальних жердинах [5, 6]. Тварини перебували у вертикальному положенні, виконуючи щоденно, протягом місяця, помірні навантаження від 1 до 5 хв. Інтенсивні статичні навантаження становили від 5 до 20 хв.

Перед початком експерименту тварин оглядали, враховуючи їх локомоторну активність та стан шкірного покриву. Після відбору щурів з аномаліями поведінки тварин задіявали в експеримент. Під час дослідів у віварії підтримували постійну температуру, щури отримували належний догляд. Постановку експерименту здійснювали згідно з Правилами Європейської конвенції про гуманне ставлення до лабораторних тварин (1986 р.).

Усіх піддослідних тварин декапітували під ефірним наркозом наступного дня після закінчення експерименту. Забирали для дослідження великогомілкові кістки та вивчали макро- і мікропоказники їх хімічного складу на атомному абсорбційному спектрофотометрі С-115 М за загальноприйнятою методикою. Визначали кількість кальцію, натрію, магнію, міді, марганцю, цинку і свинцю.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Під дією опромінення у дозі 0,2 Гр та вживання солей важких металів на тлі помірних статичних навантажень при хімічному дослідженні великогомілкових кісток у першій серії відмічено збільшення, порівняно з інтактними тваринами, вологи на 10,93 %, в другій серії – на 11,39 %, в третій – на 13,45 %; гідрофільних елементів натрію та калію – на 9,33 та 9,53 %, в другій та третій серіях – на 11,10 і 9,17 % та 13,57 і 10,52 % відповідно.

Збільшувався вміст елементів, що надходили ззовні: рівень міді підвищується на 10,92 та 11,09 і 4,86 %; цинку в першій серії – на 7,02 %, у третій – на 9,68 %; марганцю в другій – на 7,53 %; свинцю – на 3,42, 9,71 і 10,37 %. Одночасно зменшувався вміст мінеральних речовин: у першій серії – на 12,42 %, в другій – на 13,04 %, в третій – на 15,91 %. Зменшення мінерального насичення відбувається в основному за рахунок кальцію, вміст якого знизився на 12,73, 13,61 та 15,39 %; магнію – на 7,35, 7,53 і 8,83 %; марганцю в першій та третій серіях – на 9,04 та 11,98 % відповідно, а також цинку в другій серії – на 10,25 %.

Відносно нетренованих тварин вміст вологи, відповідно до серій, зменшувався і різниця складає 3,58, 4,86 та 7,0 %; натрію – 3,26, 3,16, 4,94 %; калію – 1,75, 3,79, 3,8 %; міді в першій серії – 5,45 %, в другій – 5,87 %; цинку в першій та третій серіях – 5,29 і 6,24 %.

Разом із тим, збільшувався вміст мінеральних речовин на 3,8 % в першій серії, на 5,12 % – в другій, на 7,07 % – в третій; кальцію – на 5,78, 6,31 і 11,02 %; свинцю в першій серії – на 1,28 %; марганцю в першій та третій серіях

на 6,85 і 5,35 %; магнію – на 3,44, 3,15 і 4,89 %; міді в третій серії – на 4,07 %; цинку в другій – на 4,6 % відповідно.

На тлі інтенсивних статичних навантажень великогомілкових кісток під дією опромінення та вживання солей важких металів у першій серії, порівняно з інтактними тваринами, відмічено збільшення вологи на 19,25 %, в другій серії – на 22,54 %, в третій – на 25,98 %; натрію та калію – на 16,29 і 16,77 % відповідно, в другій – на 18,66 і 18,35 % та третій – на 21,94 і 20,19 %; рівень міді підвищується в першій серії на 7,72 %, в другій – на 9,92 %; цинку в першій серії – на 17,48 %, в третій – на 19,42 %; свинцю в першій серії – на 1,97 %, в другій – на 18,33 %, в третій – на 21,14 %; марганцю в другій серії – на 16,81 %. Одночасно зменшується вміст мінеральних речовин: у першій серії – на 21,31 %, в другій – на 24,59 %, в третій – на 29,82 %; різниця кальцію складає, відповідно до серій, 23,41, 26,99, 31,68 %; магнію – 16,28, 18,94, 20,82 %; марганцю в першій серії – менша на 19,59 %, в третій – на 20,08 %; міді в третій – на 16,02 %; цинку в другій – на 18,77 %.

Відносно нетренованих тварин вміст вологи збільшувався в першій серії на 4,74 %, в другій – на 6,29 %, третій – на 5,53 %; різниця гідрофільних елементів натрію та калію складає, відповідно до серій 3,7 і 5,49 %, 4,4 і 5,39 %, 3,43 і 5,87 %; вміст свинцю в другій серії зростає на 4,86 %, в третій – на 6,03 %; цинку в першій серії – на 5,17 %, в третій – на 3,5 %; марганцю в другій серії – на 4,39 %.

Навпаки, кількість свинцю в першій серії зменшувався незначно – в межах 0,17 %; цинку в другій серії – на 3,92 %; марганцю в першій серії – на 3,7 %, в третій – на 2,75 %.

ВИСНОВОК. Інтенсивні статичні фізичні навантаження разом із низькими дозами опромінення та вживанням солей важких металів негативно впливають на хімічний склад кісток, знижуючи їх мінералізацію. Навпаки, помірні статичні фізичні навантаження можуть частково корегувати дію несприятливих чинників зовнішнього середовища і їх можна використовувати для профілактики змін у скелеті.

Література

1. Гінч О.В., Кук Ю.В. Радіаційна обстановка на Сумщині // Стан природного середовища та проблеми його охорони на Сумщині. – Суми: Джерело, 1997. – С. 44-52.

2. Засуха В. Екологічна криза: загальна характеристика, причини виникнення, наслідки та шляхи подолання // Наук. світ. – 2000. – № 7. – С. 13-17.

3. Ковалев А.С., Хомазюк И.Н. Физическая

работоспособность и ее изменения при воздействии ионизирующего излучения // Укр. мед. часопис. – 1999. – № 2/10. – С. 83-85.

4. Ковешников В.Г., Гомон В.А., Ласий Ю.Г., Федонюк Я.И. Влияние статических нагрузок различной интенсивности на строение и рост длинных трубчатых костей // Спорт, психофизическое развитие и генетика. – М.: Б.И., 1976. – С. 174-175.

5. Плотников В.П., Поляев Б.А., Чоговадзе А.В. К вопросу о классификации физических упражнений // Вопросы курортологии, физиотерапии и

ЛФК. – 2001. – № 3. – С. 19-22.

6. Терехова Г.М., Олійник В.А., Поворознюк В.В. Стан кісткової тканини, фосфорно-кальцієвого гомеостазу при дифузному токсичному зобі, гіпотиреозі та гіперкотицизмі // Енбокріонологія. – 1997. – № 7. – С. 73.

7. Хомазюк И.Н. Толерантность к физической нагрузке и факторы, ее определяющие, у лиц, принимавших участие в ликвидации последствий аварии на ЧАЭС // Врач. дело. – 1995. – № 5-6. – С. 31-35.

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ СУМСКОЙ ОБЛАСТИ НА МИНЕРАЛЬНЫЙ СОСТАВ ДЛИННЫХ КОСТЕЙ В КОМБИНАЦИИ СО СТАТИЧЕСКИМИ ФИЗИЧЕСКИМИ НАГРУЗКАМИ

А.Е. Шепелев

СУМСКОЙ ГОСУДАРСТВЕННОЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Установлено, что интенсивные физические нагрузки совместно с низкими дозами облучения и употреблением солей тяжелых металлов негативно влияют на химический состав костей. Наоборот, умеренные статические физические нагрузки могут частично корректировать действие неблагоприятных факторов внешней среды и их можно использовать для профилактики изменений в скелете.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **белые крысы, большеберцовые кости, соли тяжелых металлов, облучение, статические физические нагрузки, макро- и микроэлементы.**

INFLUENCE OF ENVIRONMENTAL FACTORS OF SUMY REGION ON MINERAL STRUCTURE OF LONG BONES IN COMBINATION WITH STATIC PHYSICAL LOADING

A.Y. Shepelev

SUMY STATE UNIVERSITY

Summary

It has been established that intensive static physical loading combined with low portions of irradiation and usage of heavy metal salts have a negative influence on chemical structure of bones. But moderate static physical loading may partially correct the effect of unfavourable environmental factors for prevention of changes in skeleton.

KEY WORDS: **white rats, tibia, salts of heavy metals, irradiation, static physical loading, macro- and microelements.**

Отримано 10.01.2006 р.

Адреса для листування: А.Е. Шепелев, Сумський державний університет, медичний інститут, вул. Санаторна 31, Суми, 40007, Україна.

АКТИВАЦІЯ ОПІОЇДНИХ РЕЦЕПТОРІВ ТА РІВЕНЬ ІНДУКОВАНОГО АПОПТОЗУ В КУЛЬТУРІ МОНОНУКЛЕАРНИХ КЛІТИН

I.O. Комаревцева, O.M. Клімочкіна
ЛУГАНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Використання культури клітин як моделі дослідження з вивчення механізмів апоптозу дає можливість оцінити безпосередню реакцію клітин, виключаючи вплив ендокринної та нервових систем. У роботі було проведено дослідження впливу активації опіоїдних рецепторів на ступінь деградації ядерної ДНК у культурі мононуклеарних клітин крові людини. Доведено, що агоніст опіоїдних рецепторів даларгін при самостійній дії стимулює апоптотичну загибель, тоді як при гормонально індукованому апоптозі активація опіоїдних рецепторів клітин даларгіном спрямована на захист клітин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: апоптоз, опіоїдні рецептори, даларгін, мононуклеарні клітини.

ВСТУП. Програмована клітинна загибель (апоптоз) характеризується різними біохімічними і морфологічними змінами в ядрі та цитоплазмі клітин. Деградація ДНК – термінальна фаза апоптозу, при цьому ознаки фрагментації ДНК з'являються за декілька годин до початку зниження життєздатності клітин [2], а потім є яскравим маркером апоптозу.

До апоптозу схильні всі клітинні системи організму, зокрема імунна. З ранніх етапів кровотворення апоптоз виступає фактором відбору клітин і разом з проліферацією та диференціацією регулює кількість різних популяцій клітин імунної системи, визначає розвиток імунної відповіді або формування імунологічної толерантності [8]. Механізмам апоптозу і порушенню його регуляції належить одне з провідних місць у виникненні запалення, розвитку автоімунних, алергічних та імунодефіцитних станів [4].

Використання культури клітин як моделі дослідження з вивчення механізмів апоптозу дає можливість оцінити безпосередню реакцію клітин, виключаючи вплив ендокринної та нервової систем. Проте при культивуванні мононуклеарних клітин (МНК) крові людини запускається спонтанний апоптоз через дефіцит факторів росту в поживному середовищі, відтак цю культуру можна розглядати як зручну модель для дослідження апоптозу.

Активатор опіоїдних рецепторів даларгін має антигіпоксичну, антиоксидантну, гіпотензивну дії [5]. Така різноманітна активність препарату спрямована на підтримку гомеостазу і впливає на процеси різних клітин організму [1]. Метою даної роботи було вивчення впливу активації опіоїдних рецепторів на ступінь деградації ядерної ДНК у культурі мононуклеарних клітин крові людини.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Мононуклеарні клітини (МНК) периферичної крові виділяли з гепаринізованої венозної крові на градієнті щільності фіколу-верографіну ($\rho=1,077$) за допомогою центрифугування при кімнатній температурі протягом 30 хв при 400 g [7]. Клітини культивували в середовищі Ігла MEM з додаванням L-глютаміну, 10 % ембріональної телячої сироватки та антибіотиків при 37 °C. Концентрація клітин складала $2 \cdot 10^6$ на 1 мл середовища. Життєздатність виділених клітин оцінювали за даними тесту з трипановим синім. Клітини культивували 24, 48 і 72 год (контрольні групи спонтанного апоптозу). Кожному часовому інтервалу відповідали 3 експериментальні групи: клітини першої групи культивували з дексаметазоном у концентрації 10-3 мг/мл, клітини другої групи – з даларгіном у концентрації 10-6 М, клітини третьої групи – з даларгіном (10-6 М) та дексаметазоном (10-3 мг/мл). Після інкубації клітини відмивали у фізіологічному

розчині. Біохімічну детекцію апоптозу проводили за визначенням кількості фрагментованої ДНК (фДНК) з використанням дифеніламінового тесту [6]. Для відсікання некротичних клітин здійснювали подвійну гомогенізацію із сахарозним середовищем і лізис-буфером.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Після 24 год культивування МНК (контроль) характеризувались досить низьким рівнем фрагментації ДНК, який підвищувався на 2 добу і до 72 год інкубації склав 21,2 % (табл. 1). У даному випадку причиною збільшення фДНК може бути відсутність у поживному середовищі необхідних факторів росту.

У першій експериментальній групі (МНК з дексаметазоном) рівень фДНК підвищувався на 79,8 %, у другій (МНК з даларгіном) – на 34,3 %, в третій – на 67,8 %. Після 48 год інкубації збільшення фДНК в першій групі склало 75 %, в другій – 18,1 %, в третій – 70,2 %. При спільному культивуванні протягом 72 год МНК з дексаметазоном збільшення фДНК склало 61,6 %, з даларгіном – 34,5 %, з дексаметазоном і даларгіном – 48,6 %. При

збільшенні часу інкубації відмічалось плавне зростання відсотка фДНК.

Мінімальний ступінь фрагментації в дослідних групах спостерігався з даларгіном, потім йшла група поєднаної дії даларгіну і дексаметазону, максимальне підвищення фДНК мало місце в групі з дексаметазоном.

Такі дані частково пояснюються участю глюкокортикоїдних гормонів у стимуляції продукування клітинами активних форм кисневих метаболітів і формуванні окиснювального стресу [3]. При створенні патологічних умов (третя дослідна група) активація опіоїдних рецепторів клітин даларгіном при гормонально індукованому апоптозі спрямована на захист клітин. Таким чином, отримані результати свідчать про те, що агоніст опіоїдних рецепторів даларгін при самостійній дії на МНК стимулює апоптотичну загибель клітин, тоді як за умов гормонально індукованого апоптозу він інгібує програмовану клітинну загибель МНК.

ВИСНОВОК. Агоніст опіоїдних рецепторів даларгін є модулятором апоптотичної загибелі клітин.

Таблиця 1 – Динаміка рівня фДНК у культурі МНК здорових донорів

Час інкубації	Кількість фДНК (%) в інтактній культурі МНК (контроль)	Кількість фДНК (%) в культурі МНК з дексаметазоном	Кількість фДНК (%) в культурі МНК з даларгіном	Кількість фДНК (%) в культурі МНК з дексаметазоном і даларгіном
24 год	7,24±3,76	35,90±4,75*	11,02±2,86*	22,5±3,2*
48 год	10,80±4,52	43,3±4,6*	28,85±4,10*	36,2±4,9*
72 год	21,20±3,95	55,2±3,8*	32,35±3,50*	41,25±4,20*

Примітка. $p < 0,05$ – результат достовірний відносно контролю.

ЛІТЕРАТУРА

1. Александрова В.А., Рыкова С.В. Даларгин – фармакологические и клинические аспекты // Педиатрия. – 1993. – № 3. – С. 101-104.
2. Брюне Б., Кандау К., А. Фон Ктенен. Оксид азота и апоптоз // Биохимия. – 1998. – 63, вып. 7. – С. 966-975.
3. Долгачев В.А., Афанасьев В.Н., Долгачева Н.Н., Печатников В.А. Предотвращение N-ацетил-L-цистеином апоптоза тимоцитов, вызванного УФС-облучением // Иммунология. – 2000. – № 4. – С. 35-38.
4. Ковальчук Л.В., Чередеев А.Н. Апоптогенные механизмы возникновения иммунодефицитных заболеваний // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1999. – № 5. – С. 47-52.
5. Колотилов М.М., Розенфельд Л.Г., Гунський Ю.І. Фармакологічні властивості і клінічне застосування даларгіну // Ліки. – 1995. – № 1. – С. 39-48.
6. Орлова Е.А., Комаревцев В.Н. Определение фрагментированной ДНК в клетках почечной ткани // Актуальні проблеми акушерства і гінекології, клінічної імунології та мед. генетики. – 2001. – Вып. 6. – С. 206-207.
7. Передерий В.Г., Земсков А.М., Бычкова Н.Н. Иммуный статус, принципы его оценки и коррекция иммунных нарушений. – К., Здоров'я, 1995. – 211 с.
8. Ярилин А.А. Апоптоз и его место в иммунных процессах // Иммунология. – 1996. – № 6. – С. 10-22.

АКТИВАЦИЯ ОПИОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ И УРОВЕНЬ ИНДУЦИРОВАННОГО АПОПТОЗА В КУЛЬТУРЕ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК

И.А. Комаревцева, Е.М. Климочкина
ЛУГАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Использование культуры клеток, как модели исследования по изучению механизмов апоптоза дает возможность оценить непосредственную реакцию клеток, исключая влияние эндокринной и нервных систем. В работе было проведено исследование влияния активации опиоидных рецепторов на степень деградации ядерной ДНК в культуре мононуклеарных клеток крови человека. Доказано, что агонист опиоидных рецепторов даларгин при самостоятельном действии стимулирует апоптотическую гибель, тогда как при гормонально индуцированном апоптозе активация опиоидных рецепторов клеток даларгином направлена на защиту клеток.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: апоптоз, опиоидные рецепторы, даларгин, мононуклеарные клетки.

ACTIVATION OF OPIOID RECEPTORS AND INDUCTIVE APOPTOSIS LEVEL IN MONONUCLEAR CELL CULTURE

I.O. Komarevtseva, O.M. Klimochkina
LUHANSK STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

Application of cell culture as a model for research of apoptosis mechanisms makes it possible to estimate direct reaction of cells, including the influence of endocrine and nervous system. The influence of opioid receptor activation on the level of nuclear DNA fragmentation in the human blood mononuclear culture was investigated in the article. It was proved that independent action of dalargin results in apoptotic death while at hormone-induces apoptosis the activation of opioid receptors of cell by dalargin is directed onto defence of cells.

KEY WORDS: apoptosis, opioid receptors, dalargin, mononuclear cells.

Отримано 12.04.2006 р.

Адреса для листування: О.М. Клімочкина, Луганський державний медичний університет, кафедра медичної хімії, кв. 50-річчя Оборони Луганська, 1, Луганськ, 91054, Україна.

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

МАРКЕРИ ФОРМУВАННЯ І МЕТАБОЛІЗМУ КІСТОК У ХВОРИХ З ХРОНІЧНОЮ СЕРЦЕВОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ

М.І. Марущак, С.М. Андрейчин

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

В роботі наведені дані про зв'язок між порушенням мінеральної щільності кісткової тканини, кальцій-фосфорним обміном і маркером кісткового метаболізму лужною фосфатазою у хворих на хронічну серцеву недостатність різних стадій.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: хронічна серцева недостатність, мінеральна щільність кісткової тканини, остеопенія, остеопороз, кальцій, фосфор, лужна фосфатаза.

ВСТУП. Кістка є динамічною системою, в якій постійно та одночасно відбувається взаємодія двох клітинних ліній: остеобластів і остеокластів, що лежить в основі кісткового ремоделювання [1, 9], а також підтримується іонний гомеостаз внутрішнього середовища за рахунок мінеральних речовин [5]. Завдяки значній міцності кістки забезпечується захист життєво важливих органів від механічних пошкоджень, опору та під час переміщення тіла. Відомо, що кістка є резервуаром для мінералів, а кальцій є головною детермінантою механічних властивостей кісткової тканини і визначає 75-85 % її міцності [3, 4]. На сьогодні виявлено, що не менш важливу роль виконує кальцій, особливо той, що входить у склад аморфного трикальційфосфату, у відношенні метаболізму кісткової тканини [7, 10]. Головними гормональними факторами, що регулюють позаклітинний гомеостаз кальцію і фосфору, є вітамін D, паратиреоїдний гормон, кальцитонін, а внутрішньоклітинний рівень кальцію контролюють кальмодулін і вітамін D-залежний кальцій-зв'язуючий білок [11].

До маркерів формування кісткової тканини відносять лужну фосфатазу (загальну й кісткову), остеокальцин і пропептиди проколагену I типу. Найбільш доступним методом, що характеризує активність остеобластів, є визначення загальної лужної фосфатази. Вважається, що даний фермент бере участь у позаклітинному руйнуванні пірофосфату, який є білковим інгібітором відкладання фосфату кальцію [2].

У науковій літературі досі не висвітлено питання щодо стану мінералізації кісток при хронічній серцевій недостатності (ХСН). Тому

© М.І. Марущак, С.М. Андрейчин, 2006.

метою нашого дослідження було вивчити особливості змін мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ) у чоловіків з урахуванням кальцієво-фосфорного обміну та показника кісткового метаболізму лужної фосфатази у пацієнтів з ХСН на фоні ішемічної хвороби серця (ІХС) для своєчасної корекції порушень МЩКТ.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Було обстежено 73 пацієнти чоловічої статі віком від 40 до 70 років із ХСН різних стадій (за класифікацією М.Д. Стражеска – В.Х. Василенка) на фоні ІХС, в яких не було важкої супутньої патології, що могла б спричинити зміни в кістковій тканині. У 11 осіб діагностовано ХСН 0 ст. (15,1 %), у 19 чоловіків - I ст. (26,0 %), у 35 – ХСН II-A ст. (48,0 %), і в 8 – ХСН II-B ст. (10,9 %). Контрольну групу склали 10 практично здорових осіб. Усіх хворих, крім загальноприйнятих клініко-лабораторних обстежень, досліджували структурно-функціональний стан кісткової тканини і ступінь остеопенічних змін поперекового відділу хребта та проксимального відділу правої стегнової кістки за допомогою двофотонного рентгенівського абсорбціометра DPX-A фірми "Lunar Corp." (США) [6].

Концентрації кальцію, фосфору і активності загальної лужної фосфатази в сироватці крові вивчали за допомогою наборів фірми "LACHEMA" (Чехія). Метод визначення кальцію полягає в тому, що о-Крезол-фталейнкомплексон у лужному середовищі утворює з іонами Ca^{2+} фіолетовий комплекс, який визначається фотокolorиметрично при довжині хвилі 550-590 нм. Сироватковий рівень фосфору вивчали методом, який ґрунтується на тому, що фосфорна

кислота при взаємодії з ванадатом і молібдатом амонію в кислому середовищі утворює фосфорнованадієвомолібденову кислоту жовтого кольору. Оскільки лужна фосфатаза розщеплює в N-метил- D-глюкаміновому буфері 4-нітрофенілфосфат з утворенням 4-нітрофенолу і фосфату, мірою її каталітичної активності було кількість вивільнення 4-нітрофенолу, що визначалося фотометрично.

Для аналізу цифрових даних користувалися загальностатистичними методиками.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Згідно з отриманими даними денситометрії, всіх обстежуваних пацієнтів чоловічої статі без серцевої недостатності та з ХСН I, II-A, II-B стадій поділили на такі групи: пацієнти з нормальною МЩКТ, з остеопенією I ступеня, остеопенією II ступеня, остеопенією III ступеня та остеопорозом.

Встановлено, що у пацієнтів без ХСН МЩКТ практично не змінюється, тільки 18,0 % з них мають остеопенію (ОП) I ст. Із ХСН I ст. у 36,8 % хворих діагностовано нормальну МЩКТ; у 26,3 % – ОП I ст.; у 21,1 % – ОП II ст. і в 15,5 % – ОП III ст. За наявності ХСН II-A ст. у 11,4 % осіб виявлено нормальну МЩКТ, у 25,7 % – ОП I ст., у 28,6 % – ОП II ст., у 11,4 % – ОП III ст. та у 22,9 % – остеопороз. При ХСН II-B ст. реєстрували у 37,5 % пацієнтів ОП III ст. та у 62,5 % – остеопороз.

Аналіз наведених даних у таблиці 1 вказує на нормальні рівні кальцію (2,20-2,55 ммоль/л) у крові хворих з ІХС без серцевої недостатності та з ХСН різних стадій як з незміненою МЩКТ, так і з остеопенією різного ступеня та остеопорозом ($P > 0,05$).

Рівень фосфору в сироватці крові не виходив за межі норми (0,81-1,48 ммоль/л) у всіх обстежених чоловіків з ІХС без серцевої недостатності та при ХСН різних стадій з незміненою МЩКТ та при остеопенії різного ступеня вираження ($P > 0,05$).

Рівень загальної лужної фосфатази коливався в межах встановленої норми (0,90-2,30 ммоль/(л·с)) і, незважаючи на серцеву недостатність й остеопенію різного ступеня, даний показник не доходив до верхньої межі норми ($P > 0,05$).

Не було виявлено відмінності між рівнем досліджуваних показників у пацієнтів без серцевої недостатності і з нормальною МЩКТ та кальцієм, фосфором і активністю лужної фосфатази в інших групах обстежених хворих.

Отримані дані вказують на те, що при ХСН, можливо, підтримка рівня кальцію і фосфору в крові здійснюється за рахунок руйнування кісткової тканини та посилення, а в деяких випадках, імовірно, й ініціювання розвитку остеопорозу [6]. Проте не було виявлено прямого зв'язку між стадією ХСН, ступенем остеопенії та вмістом кальцію, фосфору і лужної фосфатази в сироватці крові.

Таким чином, розвиток порушень МЩКТ відбувається при збереженні нормального рівня кальцію, фосфору та активності лужної фосфатази, що підтверджується дослідженнями інших авторів [8].

ВИСНОВКИ. 1. У хворих чоловічої статі з ІХС без серцевої недостатності найчастіше реєструвалась нормальна МЩКТ, при ХСН I ст. діагностовано всі форми ОП і також незмінену

Таблиця 1 – Показники кальцій-фосфорного гомеостазу та лужної фосфатази крові у хворих на ХСН 0, I, II-A та II-B стадій ($M \pm m$)

МЩКТ	ХСН 0 ст.				ХСН I ст.				ХСН II-A ст.				ХСН II-B ст.			
	К-сть хворих	Кальцій, ммоль/л	Фосфор, ммоль/л	Лужна фосфатаза, ммоль/(л·с)	К-сть хворих	Кальцій, ммоль/л	Фосфор, ммоль/л	Лужна фосфатаза, ммоль/(л·с)	К-сть хворих	Кальцій, ммоль/л	Фосфор, ммоль/л	Лужна фосфатаза, ммоль/(л·с)	К-сть хворих	Кальцій, ммоль/л	Фосфор, ммоль/л	Лужна фосфатаза, ммоль/(л·с)
Норма	9	2,39± 0,14	1,18± 0,20	1,56± 0,05	7	2,35± 0,05	1,28± 0,20	1,92± 0,52	4	2,30± 0,32	1,03± 0,51	1,11± 0,69	-	-	-	-
ОП I ст.	2	2,36± 0,03	0,94± 0,04	1,38± 0,1	5	2,39± 0,11	0,92± 0,29	1,63± 0,25	9	2,32± 0,11	1,19± 0,30	2,05± 0,33	-	-	-	-
ОП II ст.	-	-	-	-	4	2,31± 0,10	1,21± 0,04	2,04± 0,41	10	2,35± 0,11	1,27± 0,21	1,88± 0,42	-	-	-	-
ОП III ст.	-	-	-	-	3	2,30± 0,10	1,30± 0,10	2,02± 0,32	4	2,33± 0,10	1,30± 0,09	1,86± 0,20	3	2,36± 0,03	1,27± 0,07	1,56± 0,18
Остеопороз	-	-	-	-	-	-	-	-	8	2,31± 0,09	1,23± 0,04	2,12± 0,70	5	2,31± 0,06	1,23± 0,22	1,81± 0,33
Здорові особи (контроль)	10	2,42± 0,02	1,09± 0,06	1,50± 0,06	10	2,42± 0,02	1,09± 0,06	1,50± 0,06	10	2,42± 0,02	1,09± 0,06	1,50± 0,19	10	2,42± 0,02	1,09± 0,06	1,50± 0,06

Примітка : ОП – остеопенія.

кісткову тканину, при ХСН II-A ст. переважали ОП II і III ст., а в 22,9 % виявлено остеопороз. У разі ХСН II-B ст. встановлено ОП III ст. та остеопороз.

2. У пацієнтів з ІХС без серцевої недостатності, з ХСН різних стадій та при нормальній МЩКТ чи остеопенії різного ступеня

вміст кальцію і фосфору в сироватці крові не відображав порушень МЩКТ.

3. Визначення вмісту загальної лужної фосфатази не є інформативним у пацієнтів з ХСН та остеопорозом різного ступеня для визначення інтенсивності кісткоутворення.

ЛІТЕРАТУРА

1. Клубова А.Ф., Гавриленко Т.И., Дейкун А.И. и др. Апоптоз и остеопороз // Украинский ревматологический журнал. – 2000. – № 1. – С. 19-22.

2. Насонов Е.Л. Проблемы остеопороза: изучение биохимических маркеров костного метаболизма // Клиническая медицина. – 1998. – № 5. – С. 20-23.

3. Науково-медичний проблемний центр: організація, діяльність, перспектива / досвід Українського науково-дослідного медичного центру проблем остеопорозу // Журнал практичного лікаря. – 2000. – № 4. – С. 2-3.

4. Остеопороз: эпидемиология, клиника, диагностика, профилактика и лечение / Под ред. Н.А. Корж, В.В. Поворознюк, Н.В. Дедух, И.А. Зупонець. – Х.: Золотые страницы, 2002. – 646 с.

5. Отченашенко В.А. Стан кальцій-фосфорного гомеостазу та показників кісткового метаболізму при діабетичній остеопатії // Медична хімія. – 2002. – 4, № 2. – С. 59-61.

6. Проблемы остеопорозу / За ред. проф. Л.Я. Ко-

вальчука – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – 446 с.

7. Поворознюк В.В. Міжнародна декада захворювань кісток та суглобів: участь української асоціації остеопорозу // Журнал практичного лікаря. – 2003. – № 3. – С. 2-9.

8. Панова С.А., Кочеткова Е.А., Гельцер Б.И. Биохимические маркеры кальций-фосфорного обмена и костного метаболизма у больных с хронической сердечной недостаточностью // <http://www.meta.ua>

9. Reid D.M., Harvie J. Secondary osteoporosis // Bailliers Clin. Endocrin. Metabol. – 1997. – № 4. – P. 83-89.

10. Prestwood K.M., Kenny A.M. Osteoporosis: pathogenesis, diagnosis and treatment in older adults // Clin. Geriatr. Med. – 1998. – 3, № 3. – P. 577-579.

11. Shane E., Mancini D., Aaronson K. Bone mass, vitamin D deficiency and hyperparathyroidism in congestive heart failure // American medical journal. – 1997. – № 103. – P. 197-207.

МАРКЕРЫ ФОРМИРОВАНИЯ И МЕТАБОЛИЗМА КОСТЕЙ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

М.И. Марущак, С.М. Андрейчин

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

В работе приведены данные о связи между нарушениями минеральной плотности костной ткани, кальций-фосфорным обменом и маркером костного метаболизма щелочной фосфатазой у больных хронической сердечной недостаточностью.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хроническая сердечная недостаточность, минеральная плотность костной ткани, остеопения, остеопороз, кальций, фосфор, щелочная фосфатаза.

BONE FORMATION AND METABOLISM MARKERS IN THE PATIENT WITH CHRONIC HEART FAILURE

M.I. Marusthak, S.M. Andreychyn

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The data about connection between the disturbances of bone mineral density, calcium-phosphoric metabolism and markers of bone metabolism in patients with chronic heart failure.

KEY WORDS: chronic heart failure, bone mineral density, osteopenia, osteoporosis, calcium, phosphate, alkaline phosphatase.

Отримано 05.09.2005 р.

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

ЗАСТОСУВАННЯ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ, ЩО СТИМУЛЮЮТЬ ПРОЦЕСИ ІМУНІТЕТУ, В КОМПЛЕКСНІЙ ТЕРАПІЇ УРОГЕНІТАЛЬНИХ ІНФЕКЦІЙ

В.О. Сидоренко, Т.Є. Дасюк, Г.В. Рак
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. Д. ГАЛИЦЬКОГО

Метою даного дослідження була порівняльна оцінка лікарських препаратів, що стимулюють процеси імунітету, у 180 хворих на захворювання, які передаються статевим шляхом. Вік пацієнтів – від 18 до 55 років.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: процеси імунітету, комплексна терапія, уrogenітальні інфекції.

В останні десятиліття в Україні, як і в усьому світі, спостерігається значне зростання рівня захворюваності на урогенітальні інфекції негенококової етіології. Найпоширенішими серед них є трихомоніаз, хламідіоз, мікоплазмоз, уреоплазмоз, бактеріальні ураження сечостатевих шляхів, герпес, вірусна інфекція II типу. Моноінфікування цими збудниками складає, згідно з даними літератури, до 10 %, а асоціативність зустрічаються приблизно в 90 % випадків.

Елімінація збудників інфекційних захворювань залежить від якості проведеної етіопатогенетичної терапії та активності факторів неспецифічного та специфічного захисту пацієнта на молекулярному, клітинному та гуморальному рівнях.

Здатність лікарських препаратів, що стимулюють процеси імунітету, підвищувати загальну резистентність організму, прискорювати процеси регенерації послужила основою для більш широкого вивчення в

комплексній терапії інфекційних захворювань, які передаються статевим шляхом.

Проведено порівняльне дослідження ефективності лікування препаратами антимікробної дії – протистоцидними препаратами, антибіотиками тетрациклінового ряду, макролідами (1-ша група) та в комплексі з препаратами імуностимулювальної, моделювальної та коригувальної дій (солкотриховак, трихомонаден-флюор-інгель, уро-ваксом, кагоцел, пірогенал, продигіозан, гепон, поліоксидоній, лікопід, циклоферон, реаферон – ЕС) (2-га група) у 180 пацієнтів різної статі віком від 18 до 55 років викликаних трихомонадною інфекцією в асоціації з іншими збудниками негонорейної етіології.

У результаті проведеного нами дослідження показано, що при комплексній терапії захворювань негонорейної етіології, що передаються статевим шляхом, традиційними методами доцільно застосовувати лікарські препарати, які стимулюють або моделюють, або корегують процеси імунітету.

**ПРИМЕНЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ,
СТИМУЛИРУЮЩИХ ПРОЦЕССЫ ИММУНИТЕТА, В КОМПЛЕКСНОЙ
ТЕРАПИИ УРОГЕНИТАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ**

В.О. Сидоренко, Т.Е. Дасюк, Г.В. Рак
Львовский национальный медицинский университет им. Д. Галицкого

Резюме

Целью данного исследования была сравнительная оценка лекарственных препаратов, которые стимулируют процессы иммунитета, у 180 пациентов в возрасте от 18 до 55 лет с заболеваниями, передающимися половым путем.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: процессы иммунитета, комплексная терапия, урогенитальные инфекции.

**APPLICATION OF IMMUNE-STIMULATING MEDICINES
IN THE COMPLEX THERAPY OF UROGENITAL INFECTIONS**

V.O. Sydorenko, T.Y. Dasyuk, G.V. Rak
LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY

Summary

The purpose of the given research was the comparative evaluation of the immuno-stimulating medicines for 180 patients with age ranging from 18 to 55 years for the treatment of sexually-transmitted diseases.

KEY WORDS: immunity processes, complex therapy, urogenital infection.

Отримано 05.09.2005 р.

Адреса для листування: В.О. Сидоренко, Львівський національний медичний університет ім. Д. Галицького, вул. Пекарська, 69 а, Львів, 79001, 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” Тернопільського державного медичного університету
ім. І.Я. Горбачевського, майдан Волі, 1, м.Тернопіль, 46001
тел./факс (0352) 52-41-83; тел. 52-78-54

Медична хімія — т. 8, № 2, 2006