

Академія медичних наук України

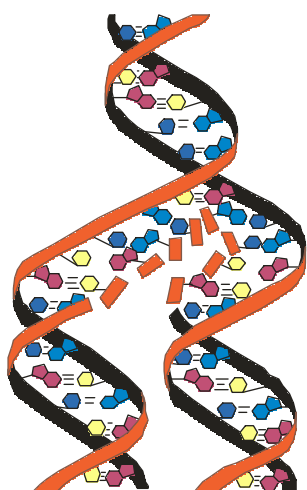
Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

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**

**3** TOM 8  
**2006**

ЖУРНАЛ ПРИСВЯЧЕНО МІЖНАРОДНІЙ  
НАУКОВО-ПРАКТИЧНІЙ КОНФЕРЕНЦІЇ  
“БІОЛОГІЧНЕ ОКИСНЕННЯ В НОРМІ Й ПАТОЛОГІЇ”,  
Тернопіль, 21-22 вересня 2006 року

- ❖ *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

## Contents

|  |    |   |
|--|----|---|
| <i>Губський Ю.І., Нікітін В.О., Коваленко С.І., Беленічев І.Ф., Левицький Є.Л., Авраменко А.І., Марченко О.М.</i> (Київ, Запоріжжя) АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ ТА ЇЇ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ІЗ КВАНТОВО-ХІМІЧНИМИ ТА ІНШИМИ ПАРАМЕТРАМИ СІРКОВМІСНИХ ХІНАЗОЛІНІВ | 7  | <i>Hubsky Y.I., Nikitin V.O., Kovalenko S.I., Belenichev I.F., Levytsky E.L., Avramenko A.I., Marchenko O.M.</i> (Kyiv, Zaporizhzhia) ANTIOXIDANT ACTIVITY AND ITS CORRELATION WITH QUANTUM-CHEMICAL AND OTHER PARAMETERS OF SULFUR-CONTAINING QUINAZOLINES |
| <i>Ситнік К.М., Коваленко С.М., Черних В.П., Вороніна Л.М., Сенюк І.В., Кравченко Г.Б.</i> (Харків) СИНТЕЗ І БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ 3-ГЕТЕРИЛ-КУМАРИНІВ З ЦИКЛАМИ ОКСАДІАЗОЛУ, ТРІАЗОЛУ, ТІАДІАЗОЛУ ТА ПРОДУКТІВ ЇХ ХІМІЧНИХ ПЕРЕТВОРЕНЬ                | 16 | <i>Sytnik K.M., Kovalenko S.M., Chernykh V.P., Voronina L.M., Seniuk I.V., Kravchenko G.B.</i> (Kharkiv) SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF 3-HETERYLCUMARINS WITH CYCLES OF OXADIASOL, TRIASOL, TIADIASOL AND PRODUCTS OF THEIR CHEMICAL CONVERSIONS     |
| <i>Книш О.В., Овсянніков С.Є., Нікітченко Ю.В., Компанієць А.М.</i> (Харків) ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИРАДИКАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КРІОПРОТЕКТОРІВ ТА ЇХ ВПЛИВУ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ ПОЛ У СИСТЕМІ "ТРОМБОЦИТИ-ПЛАЗМА"  | 25 | <i>Knysh O.V., Ovsyannikov S.Ye., Nikitchenko Yu.V., Kompaniets A.M.</i> (Kharkiv) INVESTIGATION OF ANTIRADICAL FEATURES OF CRYOPROTECTORS AND THEIR INFLUENCE ON THE INTENSITY OF LIPID PEROXIDATION IN "PLATELETS-PLASMA" SYSTEM                          |
| <i>Загайко А.Л., Вороніна Л.М., Стрельченко К.В.</i> (Харків) ЗМІНИ АКТИВНОСТІ СИСТЕМ РЕГУЛЯЦІЇ АПЕТИТУ ПРИ ХРОНІЧНОМУ СОЦІАЛЬНОМУ СТРЕСІ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ МЕТАБОЛІЧНОМУ СИНДРОМІ   | 29 | <i>Zagayko A.L., Voronina L.M., Strelchenko K.V.</i> (Kharkiv) CHANGES OF APPETITE REGULATION SYSTEMS ACTIVITY UNDER CHRONIC SOCIAL STRESS AND EXPERIMENTAL METABOLIC SYNDROME  |
| <i>Грицик А.Р.</i> (Івано-Франківськ) ВИВЧЕННЯ ЕЛЕМЕНТНОГО СКЛАДУ РОСЛИН РОДУ ТИРЛИЧ   | 35 | <i>Hrytsyk A.R.</i> (Ivano-Frankivsk) STUDY OF ELEMENT COMPOSITION OF GENUS GENTIANA PLANTS   |
| <i>Кучменко О.Б., Петухов Д.М., Донченко Г.В.</i> (Київ) РЕГУЛЯЦІЯ ВМІСТУ УБІХІНОНУ Й АКТИВНОСТІ УБІХІНОНЗАЛЕЖНИХ ОКСИДОРЕДУКТАЗНИХ СИСТЕМ ЛАНЦЮГА ТРАНСПОРТУ ЕЛЕКТРОНІВ ЗА УМОВ ВІТАМІН Е-ГІПОВІТАМІНОЗУ  | 38 | <i>Kuchmenko O.B., Petukhov D.M., Donchenko G.V.</i> (Kyiv) REGULATION OF UBIQUINONE CONTENT AND ACTIVITY OF UBIQUINONE-DEPENDING OXIDE-REDUCTASE SYSTEMS OF ELECTRONE TRANSPORT CHAIN UNDER VITAMIN E-HYPOVITAMINOSIS                                      |
| <i>Тарасенко Л.М., Непорада К.С., Корольова В.В.</i> (Полтава) ПАРАЛЕЛІЗМ АКТИВАЦІЇ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ І ПРОТЕОЛІЗУ В ТКАНИНАХ ПРИ ГОСТРОМУ ЕМОЦІЙНОМУ СТРЕСІ  | 41 | <i>Tarasenko L.M., Naporada K.S., Korolyova V.V.</i> (Poltava) PARALLELISM OF ACTIVATION OF FREE RADICAL PROCESSES AND PROTEOLYSIS IN TISSUES AT ACUTE EMOTIONAL STRESS   |
| <i>Заїчко Н.В., Пентюк О.О.</i> (Вінниця) ВПЛИВ ТІОЛЬНИХ СПОЛУК ТА ЇХ ДИСУЛЬФІДНИХ ФОРМ НА АГРЕГАЦІЮ ТРОМБОЦИТІВ ЛЮДИНИ  | 45 | <i>Zaichko N.V., Pentiuk O.O.</i> (Vinnytsia) THE INFLUENCE OF THIOL COMPOUNDS AND THEIR DISULFIDE FORMS ON HUMAN PLATELET AGGREGATION  |
| <i>Фартушок Н.В., Хаврона О.П., Мелех О.П., Ступницький М.Д., Дзецюх Т.Д.</i> (Львів) СТАН ПРООКСИДАНТНОЇ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ ПРИ РІЗНИХ ОНКОПАТОЛОГІЯХ  | 48 | <i>Fartushok N.V., Khavrona O.P., Melekh O.P., Stupnytsky M.D., Dzetsyukh T.D.</i> (Lviv) STATE OF PROOXIDANT AND ANTIOXIDANT SYSTEMS. IN PATIENTS WITH DIFFERENT NEOPLASTIC DISEASES   |
| <i>Ігрунова К.М., Губський Ю.І.</i> (Київ) ЕНЕРГООБМІН ТА АПОПТОЗ КЛІТИН КРОВІ ПРИ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОМУ СТРЕСІ  | 51 | <i>Igrunova K.M., Hubsky Yu.I.</i> (Kyiv) NERGY METABOLISM AND BLOOD APOPTOSIS AT IMMOBILIZING STRESS   |
| <i>Шикаєва Ф.В., Луценко Н.С., Єфіменко Н.Ф., Плотнікова В.М., Івахненко Н.Т.</i> (Запоріжжя) СТАН ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І БІЛКІВ ТА РІВЕНЬ МЕЛАТОНІНУ В ЖІНОК З КЛІМАКТЕРИЧНИМ СИНДРОМОМ  | 54 | <i>Shykaeva F.V., Lutcenko N.S., Efimenko N.F., Plotnikova V.M., Ivachnenko N.T.</i> (Zaporizhzhia) STATE OF LIPID AND PROTEIN PEROXIDATION AND MELATONINE LEVEL IN WOMEN WITH CLIMACTERIC SYNDROME   |
| <i>Пономаренко О.А.</i> (Дніпропетровськ) ВПЛИВ ГЛУТАРГІНУ НА СТАН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ УЛЬЦЕРОГЕНЕЗІ У ЩУРІВ   | 57 | <i>Ponomarenko O.A.</i> (Dnipropetrovsk) INFLUENCE OF GLUTARGIN ON THE GASTRIC MUCOSA CONDITION IN RATS WITH EXPERIMENTAL PEPTIC ULCER.   |

- Пономаренко Л.А., Лихолат О.А., Пономаренко О.А., Руденко А.І., Хоменко О.М. (Дніпропетровськ) СТАН АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ТВАРИН З ПАТОЛОГІЄЮ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЇ ЗОНИ ПРИ ПОЄДНАНІЙ ДІЇ ГЛУТАРГІНУ ТА МАГНІТНОГО ПОЛЯ 60
- Скляр О.Я., Ковалик Н.Б. (Львів) ЗМІНИ ПРОЦЕСІВ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ ТА АКТИВНОСТІ ЕНЗИМІВ СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ПРИ ВВЕДЕННІ ОЛІЇ АМАРАНТУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ВИРАЗКОВОГО КОЛІТУ 63
- Барська М.Л., Бродяк І.В., Сибірна Н.О. (Львів) ДОСЛІДЖЕННЯ ОКРЕМИХ ЛАНОК ОКИСНОГО ТА НЕОКИСНОГО ШЛЯХІВ ОБМІНУ L-АРГІНІНУ В ЛЕЙКОЦИТАХ ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ 1-ГО ТИПУ 67
- Турияница І.М., Бурдова М., Росток Л.М., Гудец Й., Балінт Л.І. (Нітра, Словаччина; Ужгород) АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ РІЗНИХ ЧАСТИН ЕХІНАЦЕЇ ПУРПУРОВОЇ ЯК ПОКАЗНИК ЇЇ ПРОФІЛАКТИЧНОЇ ТА ЛІКУВАЛЬНОЇ ЦІННОСТІ 70
- Ясінська О.В. (Чернівці) СТАТЕВІ ОСОБЛИВОСТІ РЕАГУВАННЯ ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ ПЛАЗМИ КРОВІ НА ГІПОБАРИЧНУ ГІПОКСІЮ ЗА УМОВ РІЗНОЇ ТРИВАЛОСТІ ФОТОПЕРІОДУ 73
- Клевета Г.Я., Дацюк Л.О., Старанко У.В., Чорна І.В., Чайка Я.П., Стойка Р.С. (Львів) ОЦІНКА СТАНУ ГЛУТАТІОНОВОЇ СИСТЕМИ В ІМУНОКОМПЕТЕНТНИХ КЛІТИНАХ КРОВІ ЗА ДІЇ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ 76
- Мещишен І.Ф., Яремій І.М., Григор'єва Н.П., Давидова Н.В. (Чернівці) ІНТЕНСИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ОКИСНЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ І ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ ТА КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ НАСТОЯНКИ ЕХІНАЦЕЇ ПУРПУРОВОЇ ТА ЕТОНІУ 79
- Ільчишин Н.В., Телеш Е.Г., Сибірна Н.О. (Львів) ВПЛИВ L-АРГІНІНУ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ТРОМБОЦИТІВ ЗА УМОВ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ 82
- Гонський Я.І., Острівка О.І. (Тернопіль) ВПЛИВ ПОЄДНАНОЇ ДІЇ МЕТАЛОКОМПЛЕКСУ ГІСТИДИНАТУ МІДІ ТА ЕНТЕРОСОРБЕНТУ "ФІБРАБЕТ" НА ПОКАЗНИКИ БІЛКОВОГО ОБМІНУ ЗА УМОВ УРАЖЕННЯ ХЛОРИДОМ КАДМІЮ ТА НІТРИТОМ НАТРІЮ НА ТЛІ РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ 85
- Ткачук О.В., Мислицький В.Ф., Ткачук С.С., Тимофійчук І.Р., Філіпова Л.О. (Чернівці) РОЛЬ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У МЕХАНІЗМАХ ПЛАСТИЧНОСТІ МОЗКУ, ЗУМОВЛЕНОЇ ПРЕНАТАЛЬНИМ СТРЕСОМ 89
- Василинчук Н.М., Мхитарян Л.С. (Київ) КОМПОНЕНТИ ГЛІКОКАЛІКСУ ТА ЩІЛЬНІСТЬ АДРЕНОРЕЦЕПТОРІВ ПЛАЗМАТИЧНИХ МЕМБРАН КАРДІОМІОЦИТІВ ПРИ ПОЄДНАНОМУ ВПЛИВІ ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЇ І БОЛЬОВОГО СТРЕСУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ; ЕФЕКТИ ДИЛТІАЗЕМУ 92
- Ponomarenko L.A., Lykholat E.A., Ponomarenko O.A., Rudenko A.I., Khomenko O.M. (Dnipropetrovsk) ANTIOXIDANT PROTECTION STATE IN ANIMALS WITH GASTRODUODENAL PATHOLOGY AT COMBINED ACTION OF GLUTARGIN AND MAGNETIC FIELD
- Sklyarov O.Ya., Kovalyk N.B. (Lviv) CHANGES OF LIPOPEROXIDATION PROCESSES AND ACTIVITY OF ANTIOXIDANT PROTECTION ENZYMES DUE AT AMARANTH OIL INTRODUCTION AGAINST THE BACKGROUND OF EXPERIMENTAL ULCEROGENIC COLITIS.
- Barska M.L., Brodyk I.V., Sybirna N.O. (Lviv) STUDY OF SEPARATE LINKS OF OXIDATIVE AND NON-OXIDATIVE PATHWAYS OF L-ARGININE METABOLISM IN LEUKOCYTES UNDER TYPE 1 DIABETES MELLITUS
- Turyanitsa I.M., Burdova M., Rostoka L.M., Hudec J., Balint L.I. (Nitra, Slovakia; Uzhhorod) ANTIOXIDANT ACTIVITY OF VARIOUS PARTS OF ECHINACEA PURPUREA AS THE INDEX OF ITS PROPHYLACTIC MEDICINAL VALUE
- Yasynska O.V. (Chernivtsi) SEX-DEPENDENT REACTION OF BLOOD PLASMA OXIDATIVE AND ANTIOXIDATIVE SYSTEMS ONTO THE HYPOBARIC HYPOXIA UNDERVARYING DURATION OF PHOTOPERIOD
- Kleveta H.Y., Staranko U.V., Datsyuk L.O., Chorna I.V., Chayka Ya.P., Stoyka R.S. (Lviv) ESTIMATION OF OF GLUTATHIONE SYSTEM STATE IN IMMUNOCOMPETENT CELLS OF BLOOD UNDER THE EFFECT OF LOW DOSE X-RADIATION
- Meshchysheh I.F., Yaremiy I.M., Grygoryeva N.P., Davydova N.V. (Chernivtsi) OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS AND LIPID PEROXIDATION ACTIVITIES IN RAT BLOOD AT THE TOXIC HEPATITIS AND COMBINED ACTION OF TINCTURE OF ECHINACEA AND AETHONIUM
- Ilchyshyn N.V., Telesh E.H., Sybirna N.O. (Lviv) EFFECT OF L-ARGININE ON THE FUNCTIONAL STATE OF PLATELETS UNDER ALCOHOL INTOXICATION
- Honsky Ya.I., Ostrivka O.I. (Ternopil) THE EFFECT OF COMBINED ACTION OF METAL COMPLEX OF COPPER HISTIDINATE AND ENTEROSORBENT "FIBRABET" ON INDICES OF PROTEIN METABOLISM AFTER ACTION OF CADMIUM CHLORIDE AND SODIUM NITRATE AGAINST THE BACKGROUND OF RADIOACTIVITY
- Tkachuk O.V., Myslytsky V.F., Tkachuk S.S., Tymofiychuk I.R., Filipova L.O. (Chernivtsi) ROLE OF FREE RADICAL PROCESSES IN BRAIN PLASTICITY MECHANISMS CAUSED BY PRENATAL STRESS
- Vasylynchuk N.M., Mkhitaryan L.S. (Kyiv) STRUCTURE OF GLCOCALYX AND DENSITY OF ADRENO-RECEPTORS OF CARDIOMYOCYTE PLASMA MEMBRANES UNDER INFLUENCE OF EXPERIMENTAL COMBINED HYPERCHOLESTEROLEMIA AND PAIN STRESS; DILTIAZEM EFFECTS

|  |     |   |
|--|-----|---|
| <i>Євстратова І.Н., Мхитарян Л.С., Орлова Н.М., Василичук Н.М., Дроботько Т.Ф.</i> (Київ) ВПЛИВ АТОРВАСТАТИНУ НА ПРОЦЕСИ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ БІЛКІВ ТА ЛІПІДІВ КРОВІ ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ   | 95  | <i>Yevstratova I.N., Mkhitaryan L.S., Orlova N.M., Vasylynychuk N.M., Drobotko T.F.</i> (Kyiv) INFLUENCE OF ATORVASTATIN ON FREE RADICAL PROTEIN AND LIPID OXIDATION IN BLOOD WITH PATIENTS OF ISCHAEMIC HEART DISEASE  |
| <i>Пелешенко Г.Б., Іванов А.П., Коваль О.А., Шевцова А.І.</i> (Дніпропетровськ) ДОСЛІДЖЕННЯ ФРАГМЕНТОВАНОСТІ ФІБРОНЕКТИНУ ЛЮДИНИ ЗА УМОВ ЗАПАЛЬНОГО ПРОЦЕСУ  | 98  | <i>Peleshenko G.B., Ivanov A.P., Koval' O.A., Shevtsova A.I.</i> (Dnipropetrovsk) INVESTIGATION OF FRAGMENTATION OF HUMAN FIBRONECTIN UNDER THE INFLAMMATORY PROCESS  |
| <i>Міщук О.В., Столяр О.Б.</i> (Тернопіль) СТАН СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ТКАНИНАХ МОЛЮСКІВ З МАЛОЇ РІЧКИ ГНІЗНА  | 101 | <i>Mischuk O.V., Stolyar O.B.</i> (Ternopil) CONDITION OF ANTIOXIDANT PROTECTION SYSTEM IN TISSUES OF MOLLUSCS FROM SMALL RIVER GNIZNA  |
| <i>Каліновська І.В.</i> (Чернівці) СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ КРОВІ ВАГІТНИХ З ПЛАЦЕНТАРНОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ  | 104 | <i>Kalinovska I.V.</i> (Chernivtsi) CONDITION OF BLOOD ANTIOXIDANT SYSTEM IN PREGNANT WOMEN WITH PLACENTAL INSUFFICIENCY  |
| <i>Беленічев І.Ф., Горбачова С.В., Головкін В.В., Бухтіярова Н.В.</i> (Запоріжжя) ВПЛИВ КОМПОЗИЦІЇ "МАГНЕЛОНГ", ГЛІЦИНУ, ЕМОКСИПІНУ ТА ПІРАЦЕТАМУ НА РОЗВИТОК ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В МОЗКУ ЩУРІВ З ГОСТРИМИ ПОРУШЕННЯМИ МОЗКОВОГО КРОВООБІГУ (ІШЕМІЧНИЙ ІНСУЛЬТ) | 107 | <i>Belenishev I.F., Gorbachova S.V., Golovkin V.V., Bukhtiyarova N.V.</i> (Zaporizhzhia) INFLUENCE OF COMPOSITION "MAGNELONG", GLYCINE, EMOXIPINE AND PYRACETAM ON THE OXIDATIVE STRESS DEVELOPMENT IN BRAIN OF RATS WITH INFRIGEMENTS OF BRAIN CIRCULATION (ACUTE ISCHEMIC STROKE) |
| <i>Кімакович В.Й., Склярів П.О.</i> (Львів) ПРОЦЕСИ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ ТА АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В СЛИЗОВИХ ОБОЛОНКАХ ШЛУНКА І ТОВСТОЇ КИШКИ ЗА УМОВ ПОЄДНАНОЇ ДІЇ ЛАНСОПРАЗОЛУ З ПРОГЛУМІДОМ ТА НІМЕСУЛІДОМ У ЩУРІВ                          | 111 | <i>Kimakovych V.J., Sklyarov P.O.</i> (Lviv) LIPOPEROXIDATION PROCESSES AND ENZYMIC ANTIOXIDANT ACTIVITIES IN THE MUCOUS MEMBRANES OF STOMACH AND LARGE INTESTINE UNDER SIMULTANEOUS ACTION OF LANSOPRAZOLE WITH PROGLUMIDE AND NIMESULIDE IN RATS                                  |
| <i>Склярів О.Я., Журомський В.С.</i> (Львів) РОЛЬ ВІТАМІНІВ Е ТА С В АНТИОКСИДАНТНИХ ПРОЦЕСАХ ОРГАНІВ ТРАВНОЇ СИСТЕМИ  | 115 | <i>Sklyarov O.Ya., Zhuromsky V.S.</i> (Lviv) THE ROLE OF VITAMINS E AND C ON ANTIOXIDANT PROCESSES OF DIGESTIVE SYSTEM ORGANS   |
| <i>Стекленьова Н.І., Бразалук О.З., Литвин К.Ю., Суремченко М.С., Шевцова А.І.</i> (Дніпропетровськ) ВМІСТ ТА ГЛІКОЗИЛЬОВАНІСТЬ $\alpha$ -КИСЛОГО ГЛІКОПРОТЕЇНУ ПРИ ГОСТРИХ, ХРОНІЧНИХ ВІРУСНИХ ГЕПАТИТАХ ТА ОНКОЗАХВОРЮВАННЯХ                                   | 119 | <i>Stekleneva N.I., Brazaluk O.Z., Lytvyn K.Y., Suremenko M.S., Shevtsova A.I.</i> (Dnipropetrovsk) CONTENT AND GLYCOSYLATION OF $\alpha$ -1-ACID GLYCOPROTEIN IN ACUTE, CHRONIC VIRAL HEPATITIS AND ONCOPATHOLOGY  |
| <i>Криницька І.Я., Клішч І.М., Бекус І.Р.</i> (Тернопіль) ВПЛИВ КАРНІТИНУ ХЛОРИДУ НА ПОКАЗНИКИ БІЛКОВОГО ОБМІНУ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ГОСТРОГО АЛКОГОЛЬНОГО ОТРУЄННЯ НА ТЛІ ІНТОКСИКАЦІЇ СОЛЯМИ КАДМІЮ ТА СВИНЦЮ   | 122 | <i>Krynytska I.Ya., Klishch I.M., Bekus I.R.</i> (Ternopil) THE EFFECT OF CARNITINE CHLORIDE ACTION ON PROTEIN METABOLISM INDICES IN RATS WITH ACUTE ETHANOL ADMINISTRATION COMBINED WITH CADMIUM AND LEAD SALTS POISONING  |
| <i>Андрейчин С.М., Марущак М.І.</i> (Тернопіль) ОСОБЛИВОСТІ ПРОЯВІВ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ДО І ПІСЛЯ ПРОВЕДЕНОГО ЛІКУВАННЯ ХРОНІЧНОЇ СЕРЦЕВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ  | 126 | <i>Andreychyn S.M., Marushchak M.I.</i> (Ternopil) FEATURES OF ENDOGENIC INTOXICATION MANIFESTATIONS BEFORE AND AFTER THE TREATMENT OF CHRONIC HEART FAILURE  |
| <i>Ярошенко Т.Я.</i> (Тернопіль) Ефект ПОЄДНАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ІНГІБІТОРА ІНДУЦИБЕЛЬНОЇ НО-СИНТАЗИ N-(3-АМІНОМЕТИЛ)БЕНЗИЛ)АЦЕТАМІДИНУ І СУБСТРАТУ СИНТАЗИ ОКСИДУ АЗОТУ L-АРГІНІНУ НА ГЕПАТОТОКСИЧНІСТЬ АЛІЛОВОГО СПИРТУ  | 130 | <i>Yaroshenko T.Ya.</i> (Ternopil) EFFECT OF COMBINED APPLICATION OF INHIBITOR OF INDUCIBLE NO-SYN-TAHASE N-(3-AMINOMETHYL) BENZYL) ACETAMIDE AND SUBSTRATE OF NITRIC OXIDE SYNTHASE L-ARGININE ON HEPATOTOXICITY OF ALLYL ALCOHOL  |

## ТЕЗИ

- Федевич Ю.М., Склярів О.Я.* (Львів) КІНЕТИЧНІ ПАРАМЕТРИ ПЕРОКСИДАЗНОЇ АКТИВНОСТІ ГЕМОГЛОБІНУ (Hb) ТА ЙОГО КОМПЛЕКСУ З ГАПТОГЛОБІНОМ (Hr) 134
- Коржов В.І., Алфьоров А.М., Жадан В.М., Коржов М.В., Фесенко М.Б., Будьонна М.П.* (Київ) ПОРУШЕННЯ ЕНЕРГЕТИЧНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ ДИХАННЯ МІТОХОНДРІЙ ПЕЧІНКИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ БРОНХООБСТРУКТИВНОМУ СИНДРОМІ РІЗНОГО СТУПЕНЯ ТЯЖКОСТІ 135
- Жадан В.М., Коржов В.І., Алфьоров А.М., Коржов М.В., Фесенко М.Б., Вальтер В.А., Будьонна М.П.* (Київ) АКТИВНІСТЬ ГЛУТАТІОН-ЗАЛЕЖНИХ ФЕРМЕНТІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ БРОНХООБСТРУКТИВНОМУ СИНДРОМІ 136
- Порохнавець Х.І., Порохнавець Л.Є., Кость А.С.* (Львів) ЗМІНА КОНЦЕНТРАЦІЇ ОКСИДУ АЗОТУ В ГЕПАТОЦИТАХ ЩУРІВ НА ФОНІ СТРЕСУ 137
- Бєленічев І.Ф., Галиця В.В., Круглікова М.О., Коваленко С.І.* (Запоріжжя) ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ КОНДЕНСОВАНИХ ПОХІДНИХ [1,2,4]-ТРИАЗИНОНІВ В УМОВАХ МОДЕЛЮВАННЯ НІТРОЗУЮЧОГО ТА ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ IN VITRO 138
- Горбенко В.Н., Цепілова І.Я., Бойко В.В., Климова Є.М., Сушков С.В.* (Київ) ВПЛИВ ПРОЦЕСУ ЛІПОПЕРЕОКИСНЕННЯ НА ЛІКУВАННЯ І РЕАБІЛІТАЦІЮ ХВОРИХ НА РАК ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ 139
- Стойка Р.С., Камінський В.О., Кулачковський О.Р., Крив'як Н.В., Луцик М.Д.* (Львів) ЗМІНИ У СТРУКТУРІ ТА ФУНКЦІЯХ МІТОХОНДРІЙ ЛІМФОМНИХ КЛІТИН ПІД ЧАС ІНДУКЦІЇ АПОПТОЗУ 140
- Горбачова С.В., Бєленічев І.Ф., Бухтіярова Н.В.* (Запоріжжя) ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КОМПОЗИЦІЙНОГО ПРЕПАРАТУ "МАГНЕЛОНГ" 141
- Завербна Л.В.* (Львів) ЗАЛЕЖНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ У РОТОВІЙ РІДИНІ УЧАСНИКІВ ЛІКВІДАЦІЇ НАСЛІДКІВ АВАРІЇ НА ЧАЕС ВІД НАЯВНОСТІ ПРОТЕЗНИХ КОНСТРУКЦІЙ 142
- Вороніна Л.М., Загайко А.Л., Стрельченко К.В., Кравченко Г.Б.* (Харків) АКТИВАЦІЯ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ У ПЕЧІНЦІ СІРІЙСЬКИХ ХОМ'ЯЧКІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ 143
- Бєленічев І.Ф., Павлов С.В.* (Запоріжжя) ВПЛИВ ПРОДУКЦІЇ NO НА ПОВЕДІНКОВІ РЕАКЦІЇ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ ХРОНІЧНОГО ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ 144

## АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ ТА ЇЇ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ІЗ КВАНТОВО-ХІМІЧНИМИ ТА ІНШИМИ ПАРАМЕТРАМИ СІРКОВМІСНИХ ХІНАЗОЛІНІВ

Ю.І. Губський, В.О. Нікітін<sup>1</sup>, С.І. Коваленко<sup>1</sup>, І.Ф. Бєленічев<sup>1</sup>,  
Є.Л. Левицький, А.І. Авраменко<sup>1</sup>, О.М. Марченко  
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ  
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ<sup>1</sup>

*Вивчено антиоксидантну активність ряду сірковмісних хіназолінів та проведено розрахунки різноманітних параметрів цих сполук. Дослідження показали, що синтезовані похідні проявляють антиоксидантну активність (АОА) на всіх моделях ініціювання вільнорадикального окиснення, перевершуючи або конкуруючи при цьому з еталонами порівняння, що, правда, на моделі ураження хроматину АОА виявилась досить помірною. Невисокі коефіцієнти кореляції між значеннями дескрипторів та рівнем АОА в більшості випадків не дають змоги дати кількісну оцінку досліджуваним взаємозв'язкам. Виявлено деякі тенденції між розрахунковими значеннями параметрів сполук та їх біологічною дією, що після додаткових досліджень та уточнення на більшому об'ємі матеріалу може стати підґрунтям для формулювання загальних принципів механізму дії та підходу до створення антиоксидантів.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** сірковмісні хіназоліни, антиоксидантна активність, квантово-хімічні розрахунки, регресійний аналіз.

**ВСТУП.** Молекулярною основою багатьох захворювань, перш за все пов'язаних з дією на організм несприятливих факторів навколишнього середовища – шкідливих хімічних речовин та радіації, є пошкодження біологічних мембран та ядерного генетичного апарату клітини. Механізми таких уражень визначаються пошкоджувальною дією вільних радикалів на ці субклітинні структури [1, 2, 3, 5-8, 10, 11, 12]. Виходячи із зазначеного, лікарські засоби та харчові домішки синтетичного і природного (вітаміни, рослинні комплекси) походження, для яких характерний постульований антиоксидантний механізм дії, тобто здатність виступати інгібіторами процесів вільнорадикального окиснення біомолекул, посіли в наш час важливе місце в експериментальній та клінічній медицині. Враховуючи різноманітність позитивних біологічних ефектів антиоксидантів, їх подальший пошук та вивчення залишаються вкрай актуальними завданнями фармакології і фармації.

Разом із тим, залишається невизначеність у методах оцінки антиоксидантної та антирадикальної активності різних хімічних сполук, що ускладнює етапи первинного скринінгу та прогнозування лікарських засобів з відпо-

відними фармакологічними властивостями. До того ж, на сьогодні відсутня загальна теорія, що пов'язує антирадикальну та антиоксидантну активність фізіологічно активних сполук з особливостями їх молекулярної структури, що стримує можливості комп'ютерного прогнозування вищезначених фармакологічних ефектів.

Метою роботи було вивчення АОА серії сірковмісних хіназолінів, проведення розрахунків щодо квантово-хімічних та інших параметрів досліджуваних молекул і встановлення взаємозв'язків "структура-активність" за допомогою регресійного аналізу.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Об'єктами дослідження був ряд хіназолінів із екзоциклічною сіркою, які синтезовані на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету (І.А. Мазур – д-р фарм. наук, професор, завідувач кафедри).

Ферментативне ініціювання моделювали у гомогенаті тканин печінки щурів [4]. До 0,5 мл цитозольної витяжки тканини, приготовленої на 0,15 М фосфатному буфері, рН=7,4 (із розрахунку 200,0 мг гомогенату на 12,0 мл буферного розчину, з наступним центрифугуванням при 12 000 об./хв протягом 15 хв), додавали 0,2 мл розчину 50,0 мМ НАДФН. Досліджувані речовини вводили в систему у вигляді водних розчинів у дозі  $10^{-7}$  моль. Потім суміш інкубу-

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

вали протягом 30 хв при температурі 37 °С. Вміст малонового діальдегіду (МДА) та його похідних у гомогенаті після інкубації визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) спектрофотометрично. АОА обчислювали за формулою 1:

$$AOA = \frac{(C_x - C_o)}{C_x} \times 100 \quad (1),$$

де  $C_x$  – концентрація МДА в контрольних пробах;

$C_o$  – концентрація МДА в досліджуваних пробах.

Неферментативне ініціювання моделювали у суспензії яйцевих ліпопротеїнів [4]. Робочу кількість суспензії, приготовленої з розрахунку яйцеві ліпопротеїни – 0,15 М КСІ 1:1, розводили в 10 разів 40 мМ фосфатним буфером до рН 7,4. До 4 мл суспензії додавали 1 мл водного розчину досліджуваних речовин у дозах  $10^{-7}$  моль і 1,0 мл 25 мМ  $FeSO_4$ . Суміш інкубували 30 хв при 35 °С. До 4 мл суміші додавали 1 мл 10 % розчину трихлороцтової кислоти (ТХО) і 15 хв центрифугували при 3000 об./хв. МДА в 1 мл надосадного розчину визначали за реакцією з ТБК спектрофотометрично. АОА обчислювали за формулою 1.

Про інтенсивність процесів вільнорадикального окиснення (ВРО) у хроматині, індукованих НАДФН та аскорбатом, судили за швидкістю накопичення в них одного з кінцевих продуктів ВРО – МДА та його похідних. Для визначення швидкості накопичення МДА у фракціях хроматину в НАДФН- та аскорбатіндукованих системах ВРО, а також у неіндукованому контролі використовували метод [3, 6, 8] з деякими модифікаціями. Склад реакційної суміші (1 мл): 50 мМ Трис-НСІ, рН=7,4, 0,2 мМ  $Fe_2SO_4$ , 0,2 мМ  $Na_2P_4O_7$ ; 1 мМ НАДФН або 0,8 мМ аскорбату та 0,5-1,0 мг білка хроматину. Склад неініційованого контролю: 0,8 мл Трис-НСІ та 2 мл біозразка. Індукцію проводили на водяній бані при 37 °С протягом 2 год та зупиняли шляхом додавання 2,0 мл розчину 10 % ТХО та 10 мМ ЕДТА. Осад видаляли за допомогою центрифугування протягом 15 хв при 6000 об./хв на центрифугу ЦЛР-1. До 2 мл надосадової рідини додавали 1,0 мл 0,5 % ТБК, суміш нагрівали 15 хв при 100 °С. Зразки охолоджували та спектрофотометрували на СФ-46 в стандартних кюветах (1 см) при довжині хвилі 535 нм. Як контроль використовували суміш: 1,0 мл ТБК та 2 мл Трис-НСІ. 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 НАДФН<sup>-</sup> (НЗП) та аскорбатозалежного (АЗП) ВРО одержували, віднімаючи від сумарної величини значення концентрації МДА в неініційованому контролі.

Розраховували також значення чутливої до нагрівання складової НЗП шляхом віднімання від сумарної величини НЗП значення активності, що залишається після кип'ятіння зразків протягом 7 хв.

Для розрахунку квантово-механічних та інших характеристик молекул використовували програму HyperChem®; з метою проведення статистичних досліджень – StepRegression для Excel 2000 [9, 13].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Для дослідження взаємозв'язків "структура-активність" серед обраних похідних хіназоліну ми на першому етапі окреслили ряд дескрипторів, що, на нашу думку, могли б обумовлювати наявність та силу біологічного ефекту (табл. 1).

За допомогою напівемпіричних квантових обчислень та розрахунків за алгоритмом молекулярної механіки було виявлено такі значення згаданих величин (табл. 2, 3 та 4).

Результати досліджень, проведених *in vitro*, показали, що всі синтезовані сполуки проявляють АОА на всіх моделях ініціювання ВРО, перевершуючи або конкуруючи при цьому з еталонами порівняння (табл. 5).

Проведений множинний регресійний аналіз дозволив виявити деякі тенденції у взаємозв'язку розрахункових параметрів досліджуваних молекул із силою антиокиснювальної дії, а саме:

1. Геометрія сірковмісного фрагмента – із збільшенням довжини зв'язку S-R можна очікувати зростання біологічного ефекту. Ця тенденція спостерігається на моделі як ферментативного ( $r=0,768$ ), так і неферментативного ( $r=0,708$ ) ініціювання ВРО та може бути пояснена підвищенням хімічної лабільності відповідних пасток вільних радикалів.

2. Квантово-хімічні параметри – АОА зростає із збільшенням заряду на атомі сірки ( $r=0,667$  для ферментативної та 0,656 для неферментативної моделі) та зменшенням енергії НВМО ( $r=0,524$  для ферментативної та 0,589 для неферментативної моделі). Цей факт узгоджується з нашими уявленнями про можливі механізми хімічної взаємодії досліджуваних сполук із вільними радикалами, в ході яких сірковмісні хіназоліни відіграють роль акцепторів електронів та гарних мішеней для нуклеофілів, причому частина реакцій може перебігати переважно під орбітальним контролем, а частина – під зарядовим.

3. Параметри молекулярної механіки – помічено зворотну залежність сили ефекту від енергії деформації торсійних (двогранних) кутів ( $r=0,676$  для ферментативної та 0,682 для неферментативної моделі) та пряму від енергії



Таблиця 1 – Дескриптори, обрані для проведення аналізу

| Дескриптор                                      | Опис  |
|---|---|
| LNCSR   | Двогранний кут, що характеризує відхилення езоциклічного фрагмента від площини хіназолінового циклу (AM1)   |
| LNCS, LCSR                                      | Кути, утворені хіназоліном та сірковмісним фрагментом (AM1)   |
| d CS  | Довжина зв'язку "хіназолін-сірка" (AM1)   |
| d SR  | Довжина зв'язку "сірка-екзоциклічний фрагмент" (AM1)  |
| Енергія вигину зв'язків та кутів                | Енергія, пов'язана з напругою, що виникає внаслідок деформації, яка викликана вигинанням зв'язків та сторін валентних кутів (MM+)   |
| Енергія деформації валентних кутів              | Сумарна енергія кутових напруг від їх нормальних рівноважних величин (MM+)  |
| Енергія деформації торсійних (двогранних) кутів | Торсійна енергія взаємодії двогранних кутів, необхідна для збереження певної конформації (MM+)  |
| Енергія електростатичних взаємодій              | Енергія не з'єднаних хімічним зв'язком атомів молекули як взаємодій розділених електричних зарядів, включаючи 1-6 пари атомів (MM+)   |
| Енергія розтягнення довжин зв'язків             | Сумарна енергія напруги, викликана розтягненням довжин зв'язків від їх стандартної величини в жорсткій моделі, коли кожен з атомів знаходиться на дні потенційної ями (MM+)   |
| Енергія VdW                                     | Енергія вандерваальсових взаємодій для кожної пари валентно не пов'язаних атомів молекули, включаючи 1-4 пари атомів (MM+)  |
| Загальна енергія напруги молекули               | Енергія молекули в мінімумі потенційної ями відносно енергії гіпотетичної молекули того ж складу, але з усіма геометричними параметрами – довжинами зв'язків, величинами валентних та двогранних кутів, що мають еталонні "ненапружені" значення, та атомами, для яких вандерваальсові та електростатичні взаємодії відповідають їх безмежному віддаленню (MM+) |
| Log P   | Величина, що характеризує перерозподіл речовини в системі "октанол-вода" та використовується як критерій оцінки ліпофільності   |
| $\mu$   | Дипольний момент (AM1)  |
| V3MO  | Енергія вищої зайнятої молекулярної орбіталі (AM1)  |
| H3MO  | Енергія нижчої вільної молекулярної орбіталі (AM1)  |
| Загальна енергія                                | Сума всіх видів енергії оптимізованої структури (AM1)   |
| Енергія зв'язування                             | Енергія, яку треба прикласти ззовні для того, щоб перетворити молекулу на сукупність ізольованих атомів (AM1)   |
| q, S  | Частковий заряд на атомі сірки (AM1)  |
| Енергетична щільність                           | Різниця енергій V3MO та H3MO (AM1)  |

електростатичних взаємодій (0,603 на моделі ферментативного ініціювання).

Наступним етапом досліджень було вивчення антиокиснювальної активності нових похідних хіназоліну за показниками швидкості накопичення ТБК-активних продуктів на моделі спонтанного (неініційованого) та індукованого перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) в ізольованих мембранах ендоплазматичного ретикулума (ЕР) клітин печінки інтактних щурів [3]. Вплив похідних хіназоліну на швидкість накопичення продуктів ліпоперекиснення досліджували у концентраціях  $10^{-5}$ - $10^{-3}$  М у системах спонтанного (неініційованого), аскорбато- та НАДФН-залежного ПОЛ порівняно з фенольними антиоксидантами –  $\alpha$ -токоферолом та дибунолом, а також з тіотриазоліном, препаратом, близьким за хімічною будовою до синтезованих сполук, що характеризується антиоксидантними властивостями. Активність ФАС виражали у відсотках до контролю (проби без внесення антиоксидантів).

Вибіркове тестування сполук у концентрації  $10^{-5}$  М не продемонструвало наявності антиокиснювальних властивостей у жодній з нових сполук, спостерігалось лише незначне зменшення швидкості накопичення продуктів ПОЛ у препаратів порівняння – іонолу та  $\alpha$ -токоферолу, а тіотриазолін у цій концентрації був неефективним.

Як свідчать дані, наведені у таблиці 6, при тестуванні більшості похідних хіназолін-4-тіолу в концентрації на рівні  $10^{-4}$  М спостерігається лише тенденція до зниження утворення продуктів перекиснення за умов неініційованого та індукованого ПОЛ. Сполуки НКС-150, НКС-187 та НС-68 у цій концентрації призводять до вірогідного зменшення швидкості накопичення ТБК-активних продуктів, найбільш помітного при неініційованому та НАДФН-залежному процесі. Підвищення концентрацій названих сполук до  $10^{-3}$  М супроводжується зростанням антиокиснювальної активності, яка за ступенем близька до показників фенольних антиокси-

Таблиця 2 – Значення деяких параметрів сполук після оптимізації геометрії за допомогою методу AM1

| Шифр      | LNCSR   | LNCS    | LCSR    | d CS, A | d SR, A     |
|-----------|---------|---------|---------|---------|-------------|
| 4-SH-Quin | 0       | 122,088 | 101,34  | 1,702   | 1,326 (R=H) |
| HKC-135   | 8,5377  | 123,178 | 104,309 | 1,6984  | 1,7669      |
| HKC-150   | 3,3435  | 123,744 | 107,596 | 1,6999  | 1,7860      |
| HKC-153   | 5,0358  | 123,121 | 108,083 | 1,702   | 1,7820      |
| HKC-187   | 6,4935  | 123,719 | 108,16  | 1,701   | 1,7861      |
| HKC-112   | -9,3562 | 122,493 | 105,707 | 1,6999  | 1,7698      |
| NC-68     | 5,9151  | 122,764 | 104,229 | 1,700   | 1,7678      |
| NC-90     | 5,6568  | 123,430 | 107,610 | 1,7034  | 1,7864      |
| NC-91     | 2,5544  | 123,149 | 108,551 | 1,704   | 1,7819      |
| NC-109    | 0,0001  | 123,140 | 104,164 | 1,6960  | 1,7682      |

Таблиця 3 – Значення деяких параметрів для сірковмісних хіназолінів

| Сполука | E взмо, еВ | E нвмо, еВ | m, D   | Log P | Загальна енергія, ккал/моль | Енергія зв'язування, ккал/моль | q, S  | Енергетична щільність, еВ |
|---------|------------|------------|--------|-------|-----------------------------|--------------------------------|-------|---------------------------|
| 4-SH-Q  | -8,9886    | -0,9021    | 1,756  | 2,15  | -39529,77                   | -1906,86                       | 0,183 | 8,0865                    |
| HKC-135 | -8,9280    | -0,9815    | 0,4186 | 1,82  | -60863,20                   | -2563,24                       | 0,349 | 7,9465                    |
| HKC-150 | -8,9563    | -0,9749    | 0,8453 | 2,36  | -64454,60                   | -2842,80                       | 0,308 | 7,9814                    |
| HKC-153 | -8,9303    | -0,9301    | 1,764  | 2,83  | -68047,62                   | -3124,17                       | 0,304 | 8,0002                    |
| HKC-187 | -8,9108    | -0,9442    | 1,414  | 3,23  | -71638,05                   | -3402,85                       | 0,307 | 7,9666                    |
| HKC-112 | -8,8536    | -0,8995    | 3,253  | 2,00  | -64460,18                   | -2848,47                       | 0,266 | 7,9541                    |
| NC-68   | -8,8099    | -0,8998    | 0,4387 | 2,57  | -64454,94                   | -2843,24                       | 0,343 | 7,9101                    |
| NC-90   | -8,8644    | -0,8965    | 0,7289 | 3,11  | -68046,25                   | -3122,80                       | 0,300 | 7,9679                    |
| NC-91   | -8,8540    | -0,8472    | 1,451  | 3,58  | -71639,45                   | -3404,26                       | 0,299 | 8,0068                    |
| NC-109  | -8,7302    | -0,8421    | 1,802  | 3,35  | -72429,48                   | -3651,06                       | 0,349 | 7,8881                    |

Таблиця 4 – Значення деяких параметрів сірковмісних хіназолінів, розрахованих за алгоритмом MM+

| Сполука | Загальна енергія, ккал/моль | Напруження зв'язків, ккал/моль | Напруження кутів, ккал/моль | Напруження торсійних кутів, ккал/моль | Вандерваальсові взаємодії, ккал/моль | Напруження зв'язок-кут, ккал/моль | Електро-статичні взаємодії, ккал/моль |
|---------|-----------------------------|--------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------|
| 4-SH-Q  | 3,45064                     | 0,237784                       | 0,866103                    | -4,64                                 | 7,44831                              | 0,0159023                         | -0,477455                             |
| HKC-135 | 0,864807                    | 0,287054                       | 1,57572                     | -8,2044                               | 7,86305                              | 0,0547679                         | -0,711379                             |
| HKC-150 | 0,605472                    | 0,383361                       | 1,54706                     | -8,20258                              | 8,40771                              | 0,091839                          | -1,62191                              |
| HKC-153 | 2,248552                    | 0,486436                       | 2,00573                     | -7,51389                              | 8,73026                              | 0,144102                          | -1,60409                              |
| HKC-187 | 3,932658                    | 0,720652                       | 2,242                       | -7,02534                              | 9,26182                              | 0,181052                          | -1,44752                              |
| HKC-112 | -0,865418                   | 0,355687                       | 1,55729                     | -8,28328                              | 8,7069                               | 0,0614727                         | -3,26349                              |
| NC-68   | 0,927900                    | 0,261928                       | 2,31812                     | -8,92466                              | 8,23336                              | 0,0888159                         | -1,04967                              |
| NC-90   | 0,568933                    | 0,346548                       | 2,24914                     | -8,94627                              | 8,80935                              | 0,125765                          | -2,0156                               |
| NC-91   | 2,070585                    | 0,458775                       | 2,77762                     | -8,23632                              | 8,84797                              | 0,171641                          | -1,94909                              |
| NC-109  | 10,455527                   | 0,655260                       | 3,302                       | -10,441                               | 13,9003                              | 0,144347                          | 2,89466                               |

дантів та перевершує ефект тіотриазоліну (табл. 7). Слід зауважити, що за умов застосованої моделі тіотриазолін чинить вплив на швидкість накопичення продуктів ліпоперекиснення лише при неініційованому процесі та у найвищій концентрації. При концентрації сполук HKC-150, HKC-187 та NC-68 на рівні  $10^{-3}$  M швидкість накопичення ТБК-активних продуктів у системах спонтанного та НАДФН-залежного ПОЛ зменшується у межах 25-55 % порівняно з контролем, тоді як аскорбатозалежне ПОЛ знижується на 82,4, 68,7 та 68,7 % відповідно. Для зазначених сполук спостерігається залежність ефектів від концентрації, із збільшенням концентрації від  $10^{-5}$

до  $10^{-3}$  M антиокиснювальна активність зростає.

Таким чином, у ході скринінгових досліджень на моделі спонтанного та індукваного ПОЛ у мембранах ендоплазматичного ретикула печінки щурів виявлено сполуки з помірною антиокиснювальною активністю. До таких сполук належать похідні хіназолін-4-тіолу – HKC-150, HKC-187 та NC-68. За антиокиснювальною активністю ці сполуки перевершують тіотриазолін та дещо поступаються фенольним антиоксидантам.

Проведення регресійного аналізу, на жаль, не дало результатів, що може бути пов'язано з істотним впливом на них інших факторів, не

відображених у розглянутому нами списку дескрипторів (розчинність тощо).

Антиоксидантну активність синтезованих сполук вивчали також за умов *in vitro* на ізольованих фракціях ядерного хроматину (репресованого – РХ та транскрипційно активного – ТАХ) клітин печінки інтактних та отруєних тетрахлорметаном щурів. Раніше було доведено існування у хроматині автономної системи ПОЛ, яка за низкою показників відрізняється від класичної моделі ПОЛ – клітин мембран ендоплазматичного ретикулума [5, 8]. У таблицях 8 та 9 наведено результати визначення швидкості накопичення МДА у фракціях РХ і ТАХ клітин печінки інтактних та отруєних тетрахлорметаном тварин. Видно, що в ядерному хроматині клітин як інтактних, так і отруєних ТХМ щурів дані сполуки проявляють досить помірну АОА. У клітинах інтактних тварин у репресованому хроматині тільки сполука НКС-187 інгібує майже на 40 % ПОЛ у системі неініційованого контролю.

Регресійний аналіз одержаних результатів виявив досить багато цікавих взаємозв'язків та тенденцій.

При дослідженні хроматину отруєних ТХМ щурів:

1. Геометрія сірковмісного фрагмента. Для фракції репресованого хроматину – із зменшенням довжини зв'язку S-R можна очікувати зростання біологічного ефекту. Ця тенденція

спостерігається на моделі НАДФН-залежного перекисного окиснення ( $r=0,721$ ) та його складової, залежної від нагрівання ( $r=0,696$ ), а також на моделі аскорбатозалежного окиснення. Звертає на себе увагу пряма залежність від величини двогранного кута NCSR ( $r=0,698$ ), що описує зростання ступеня відхилення аліфатичного сірковмісного фрагмента від площини хіназоліну, роблячи його більш доступним для вільнорадикальної атаки. Така залежність притаманна і фракції транскрипційно активного хроматину, але, в даному випадку, на моделі НАДФН-залежного перекисного окиснення ( $r=0,639$ ). Для аскорбатозалежної моделі ж вимальовується пряма залежність АОА – dCS ( $r=0,639$ ), що пояснюється спрощенням атаки хіназолінового ядра нуклеофілами.

2. Квантово-хімічні параметри. Для фракції репресованого хроматину – на моделі НАДФН-залежного перекисного окиснення ( $r=0,907$ ) та його складової, залежної від нагрівання ( $r=0,940$ ), АОА зростає із збільшенням загальної енергії молекули, що неодмінно призводить до зменшення її стабільності та, відповідно, до підвищення хімічної активності. Також потрібно відзначити зворотну залежність від величини дипольного моменту на моделі аскорбатозалежного окиснення ( $r=0,703$ ), що може бути наслідком переважного перерозподілу слабо-виражених диполів до ліпофільних середовищ.

Таблиця 5 – Антиоксидантна активність синтезованих сполук у дослідях *in vitro*

| № за/п | №№ сполук*          | Ферментативне ініціювання |        | Неферментативне ініціювання |        |
|--------|---------------------|---------------------------|--------|-----------------------------|--------|
|        |                     | МДА, ммоль/мл             | АОА, % | МДА, ммоль/мл               | АОА, % |
| 1      | Інтакт              | 0,50±0,01                 | –      | 0,56±0,01                   | –      |
| 2      | Контроль            | 1,85±0,01                 | –      | 4,76±0,02                   | –      |
| 3      | НКС-135             | 1,34±0,02                 | 27,5   | 2,35±0,01                   | 50,6   |
| 4      | НКС-150             | 1,40±0,01                 | 24,3   | 1,84±0,02                   | 63,1   |
| 5      | НКС-112             | 1,40±0,01                 | 24,3   | 2,63±0,01                   | 44,7   |
| 6      | НКС-153             | 1,20±0,01                 | 35,1   | 1,52±0,01                   | 68,0   |
| 7      | НКС-187             | 1,56±0,02                 | 15,6   | 3,54±0,03                   | 25,6   |
| 8      | НКС-68              | 1,50±0,02                 | 19,0   | 2,62±0,02                   | 45,0   |
| 9      | Інтакт              | 0,56±0,001                |        | 0,70±0,02                   |        |
| 10     | Контроль            | 1,84±0,01                 |        | 3,54±0,03                   |        |
| 11     | 4-SH-Quin           | 1,80±0,03                 | 2,17   | 3,65±0,01                   | 3,11   |
| 12     | NC-90               | 1,90±0,02                 | 3,26   | 4,00±0,02                   | 12,99  |
| 13     | NC-91               | 1,51±0,01                 | 17,93  | 2,60±0,01                   | 26,55  |
| 14     | NC-109              | 1,73±0,02                 | 5,98   | 3,00±0,03                   | 15,25  |
| 15     | Контроль            | 4,92±0,14                 | –      | –                           | –      |
| 16     | Дибунол             | 3,68±0,05                 | 25,2   | –                           | –      |
| 17     | α-Токоферолу ацетат | 4,42±0,12                 | 10,16  | –                           | –      |
| 18     | Контроль            | –                         | –      | 1,23±0,04                   | –      |
| 19     | Метіонін            | –                         | –      | 1,03±0,042                  | 16,2   |
| 20     | Унітіол             | –                         | –      | 1,00±0,066                  | 18,6   |

Примітка. \* – дибунол, α-токоферолу ацетат, метіонін, унітіол додавали у дозах 3,0; 2,5; 0,76; 0,76; 0,15; 0,60 мкмоль відповідно до моделей ініціювання ВРО; досліджувані сполуки вводили у дозах  $10^{-7}$  моль згідно з усіма моделями ініціювання.

Для фракції транскрипційно активного хроматину характерною є вже пояснена вище зворотна залежність від величини НВМО, що-правда з невеликими коефіцієнтами кореляції: НАДФН-залежне окиснення ( $r=0,590$ ), НЗП,  $\Delta$  ( $r=0,689$ ), неініційований контроль ( $r=0,700$ ).

3. Параметри молекулярної механіки. Для фракції репресованого хроматину помічені зворотна залежність сили антиокиснювального ефекту від енергії напруження кутів ( $r=0,697$  для НЗП та  $0,716$  для НЗП,  $\Delta$ ), від енергії вигину зв'язків та кутів ( $r=0,712$  для НЗП та  $0,726$  для НЗП,  $\Delta$ ) та пряма від енергії деформації торсійних (двогранних) кутів ( $r=0,688$  для НЗП та  $0,753$  для НЗП,  $\Delta$ ). Для фракції транскрипційно активного хроматину характерною є зворотна залежність від енергії електростатичних взаємодій ( $r=0,731$  для НЗП).

При дослідженні хроматину інтактних щурів:

1. Геометрія сірковмісного фрагмента. Для фракції транскрипційно активного хроматину – із збільшенням довжини зв'язку S-R та величини кута CSR можна очікувати зростання біологічного ефекту. Ці тенденції спостерігаються на моделі НАДФН-залежного перекисного окиснення ( $r=0,637$  для dCS та  $0,680$  для LCSR) та його складової, залежної від нагрівання ( $r=0,501$  для dCS та  $0,663$  для LCSR).

2. Квантово-хімічні параметри. Для фракції репресованого хроматину – на моделі аскорбатозалежного окиснення прослідковується тенденція до прямої залежності від LogP ( $r=0,529$ ), що ілюструє переваги більш ліпофільних пасток вільних радикалів. На моделі неініційованого контролю проявилась зворотна залежність від величини НВМО ( $r=0,670$ ). Для фракції транскрипційно активного хроматину також характерною є зворотна залежність від

Таблиця 6 – Вплив нових похідних хіназоліну на швидкість накопичення МДА ізольованими мембранами ЕР печінки інтактних щурів (% до контролю)

| ФАС, $10^{-4}$ М             | Системи ПОЛ             |        |        |
|------------------------------|-------------------------|--------|--------|
|                              | Неініційований контроль | АЗП    | НЗП    |
| Контроль (без додавання ФАР) | 100                     | 100    | 100    |
| Дибунол                      | 58,98*                  | 30,95* | 50,60* |
| Тіотриазолін                 | 85,73                   | 103,59 | 101,21 |
| $\beta$ -Токоферол           | 52,54*                  | 40,46* | 53,21* |
| NC-68                        | 76,15*                  | 92,30  | 55,42* |
| 4-SH Quin                    | 105,08                  | 91,67  | 88,25  |
| NC-90                        | 76,9*                   | 87,0   | 88,4   |
| NC-91                        | 98,7                    | 102,3  | 105,1  |
| NC-109                       | 104,2                   | 105,3  | 100,8  |
| HKC-112                      | 94,9                    | 102,4  | 106,87 |
| HKC-135                      | 84,5                    | 102,2  | 98,4   |
| HKC-150                      | 85,73                   | 108,39 | 69,89* |
| HKC-153                      | 102,4                   | 99,24  | 98,50  |
| HKC-187                      | 66,67*                  | 106,87 | 61,45* |

Примітка. \* –  $p \leq 0,05$  (відносно контролю).

Таблиця 7 – Вплив нових похідних хіназоліну на швидкість накопичення МДА ізольованими мембранами ЕР печінки інтактних щурів (% до контролю)

| ФАС                          | Концентрація ФАР, М | Системи ПОЛ             |        |        |
|------------------------------|---------------------|-------------------------|--------|--------|
|                              |                     | Неініційований контроль | АЗП    | НЗП    |
| Контроль (без додавання ФАР) | 0                   | 100                     | 100    | 100    |
| Дибунол                      | $10^{-5}$           | 87,95                   | 76,46* | 91,71  |
|                              | $10^{-4}$           | 58,98*                  | 30,95* | 50,60* |
|                              | $10^{-3}$           | 50,25*                  | 22,62* | 52,91* |
| Тіотриазолін                 | $10^{-5}$           | 105,08                  | 95,24  | 97,21  |
|                              | $10^{-4}$           | 85,73                   | 103,59 | 101,21 |
|                              | $10^{-3}$           | 66,67*                  | 96,52  | 103,62 |
| NC-68                        | $10^{-5}$           | 97,31                   | 105,63 | 94,82  |
|                              | $10^{-4}$           | 76,15*                  | 92,30  | 55,42* |
|                              | $10^{-3}$           | 76,10*                  | 17,60* | 45,44* |
| HKC-150                      | $10^{-5}$           | 95,25                   | 103,68 | 88,28  |
|                              | $10^{-4}$           | 85,73                   | 108,39 | 69,89* |
|                              | $10^{-3}$           | 74,7*                   | 31,30* | 57,84* |
| HKC-187                      | $10^{-5}$           | 101,3                   | 98,21  | 91,25  |
|                              | $10^{-4}$           | 66,67*                  | 106,87 | 61,45* |
|                              | $10^{-3}$           | 76,15*                  | 31,30* | 55,42* |

Примітка. \* –  $p \leq 0,05$  (відносно контролю).

Таблиця 8 – Визначення швидкості накопичення МДА у фракціях хроматину печінки інтактних щурів при додаванні досліджуваних сполук у концентраціях  $10^{-5}$  (in vitro, % до контролю)

| Показники | PX       |         |              |                      |         |         |         |         |         |        |           |        |
|-----------|----------|---------|--------------|----------------------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|-----------|--------|
|           | Контроль | Дибунол | Тітріа-золін | $\alpha$ -Токкоферол | HKC-135 | HKC-150 | HKC-153 | HKC-187 | HKC-112 | NC-68  | 4-SH-Quin | NC-90  |
| НЗП       | 100,00   | 83,68   | 81,63        | 86,94                | 97,10   | 101,25  | 83,63   | 89,35   | 89,67   | 98,58  | 99,83     | 101,49 |
| НЗП, Д    | 100,00   | 87,48   | 84,79        | 87,09                | 96,55   | 103,50  | 82,76   | 90,09   | 90,96   | 100,60 | 101,07    | 102,56 |
| АЗП       | 100,00   | 81,94   | 101,52       | 84,02                | 104,13  | 103,44  | 76,17   | 103,55  | 106,51  | 100,47 | 108,55    | 102,43 |
| НК        | 100,00   | 74,03   | 81,38        | 78,11                | 68,11   | 79,97   | 65,99   | 61,71*  | 70,70   | 83,56  | 96,03     | 101,11 |
|           | TAX      |         |              |                      |         |         |         |         |         |        |           |        |
| ЗП        | 100,00   | 85,35   | 89,06        | 81,65                | 98,79   | 91,68   | 83,82   | 89,42   | 81,70   | 111,61 | 115,59    | 95,03  |
| НЗП, Д    | 100,00   | 82,29   | 89,84        | 82,81                | 101,30  | 94,01   | 78,13   | 90,63   | 84,37   | 115,10 | 111,46    | 92,45  |
| АЗП       | 100,00   | 78,12   | 94,15        | 100,00               | 127,74  | 139,44  | 115,27  | 143,77  | 133,59  | 127,74 | 166,41    | 150,38 |
| НК        | 100,00   | 81,56   | 74,28        | 67,01*               | 107,78  | 90,36   | 84,94   | 63,11*  | 85,45   | 111,68 | 122,34    | 110,66 |

Таблиця 9 – Визначення швидкості накопичення МДА у фракціях хроматину печінки отруєних ТХМ (1 ЛД50) щурів при додаванні досліджуваних сполук у концентраціях  $10^{-5}$  (in vitro, % до контролю)

| Показники | PX       |         |              |                      |         |         |         |         |         |        |           |        |
|-----------|----------|---------|--------------|----------------------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|-----------|--------|
|           | Контроль | Дибунол | Тітріа-золін | $\alpha$ -Токкоферол | HKC-135 | HKC-150 | HKC-153 | HKC-187 | HKC-112 | NC-68  | 4-SH-Quin | NC-90  |
| НЗП       | 100,00   | 83,98   | 92,04        | 87,40                | 92,89   | 91,46   | 92,62   | 93,98   | 93,10   | 93,71  | 87,06     | 92,48  |
| НЗП, Д    | 100,00   | 85,36   | 93,12        | 88,20                | 93,48   | 95,36   | 94,82   | 96,30   | 96,20   | 96,01  | 89,40     | 96,25  |
| АЗП       | 100,00   | 76,82   | 75,71        | 100,11               | 86,68   | 89,75   | 96,87   | 87,85   | 101,06  | 93,92  | 89,94     | 91,05  |
| НК        | 100,00   | 104,60  | 88,66        | 88,40                | 112,47  | 114,07  | 81,93   | 100,00  | 111,94  | 109,38 | 111,81    | 127,71 |
|           | TAX      |         |              |                      |         |         |         |         |         |        |           |        |
| НЗП       | 100,00   | 91,28   | 91,87        | 92,97                | 86,80   | 97,81   | 90,29   | 90,20   | 96,82   | 95,41  | 96,44     | 93,02  |
| НЗП, Д    | 100,00   | 93,57   | 96,62        | 94,54                | 87,01   | 98,31   | 92,25   | 92,15   | 97,02   | 99,53  | 97,55     | 94,40  |
| АЗП       | 100,00   | 69,75*  | 73,81        | 78,75                | 89,90   | 83,25   | 82,39   | 69,65   | 78,23   | 75,75  | 77,96     | 53,88* |
| НК        | 100,00   | 88,39   | 77,94        | 76,62                | 77,24   | 72,36   | 71,63   | 97,34   | 84,51   | 104,96 | 102,58    | 147,87 |

величини НВМО, щоправда на моделі аскорбатозалежного окиснення ( $r=0,580$ ). Інші залежності такого ж виду зареєстровано в рядах "АОА – загальна енергія" (НЗП,  $r=0,603$ ) та "АОА – енергія зв'язування" (неініційований контроль  $r=0,748$ ).

3. Параметри молекулярної механіки. Для фракції репресованого хроматину характерною є зворотна залежність від енергії електростатичних взаємодій ( $r=0,603$  для НЗП). Для фракції транскрипційно активного хроматину на моделі неініційованого контролю помічено відразу три прямих залежності від розрахункових параметрів: енергії розтягнення довжин зв'язків ( $r=0,921$ ), енергії вандерваальсових взаємодій ( $r=0,629$ ) та енергії вигину зв'язків та кутів ( $r=0,671$ ).

Невисокі коефіцієнти кореляції між значеннями дескрипторів та рівнем АОА в більшості випадків не дають нам змоги дати кількісну оцінку досліджуваним взаємозв'язкам, а дозволяють лише зробити їх якісну оцінку, тобто констатувати наявність певних тенденцій у поведінці незалежних та залежної змінних. Також слід відзначити невисокі показники детермінації, що вказує на існування додаткових неврахованих факторів, які впливають на результат. Непрямим підтвердженням цього можна вважати збільшення кількості зареєстрованих кореляційних зв'язків на моделі хімічного ураження хроматину порівняно з інтактним: в даному випадку домінуючий фактор (взаємодія з агресивною речовиною) витісняє випадкові, що робить загальну кореляційну картину чіткішою. На цьому тлі справджується також теза про те, що модель ТАН є більш чутливою.

Таким чином, у більшості випадків підвищення АОА можна очікувати при збільшенні величин, що характеризують напругу (та, відповідно, хімічну активність) сірковмісного фрагмента хіназолінів: подовження зв'язків SR та CS, збільшення величини двогранного кута NCSR. Крім того, зберігається тенденція до

прямого зв'язку між АОА та акцепторними властивостями досліджуваних молекул (зменшення значення енергії НВМО та, в деяких випадках, збільшення заряду на атомі сірки). Також серед параметрів молекулярної механіки найчастіше корелюють величини енергій електростатичних взаємодій (зворотна або пряма залежність), енергій вигину зв'язків та кутів (зворотна або пряма залежність) та енергій деформації торсійних (двогранних) кутів (пряма залежність).

**ВИСНОВКИ.** 1. Проведені дослідження АОА ряду сірковмісних хіназолінів показали, що синтезовані сполуки проявляють АОА на всіх моделях ініціювання ВРО, перевершуючи або конкуруючи при цьому з еталонами порівняння.

2. Вивчено антиокиснювальну активність похідних хіназоліну на ізольованих мембранах клітин печінки щурів та виявлено сполуки (НКС-150, НКС-187 та NC-68) з помірною антиокиснювальною активністю, що перевищують тіотриазолін та дещо поступаються фенольним антиоксидантам.

3. Досліджувані сполуки проявляють помірну АОА на ізольованих фракціях репресованого і транскрипційно активного хроматину клітин печінки інтактних та отруєних тетрахлорметаном щурів. У клітинах інтактних тварин у репресованому хроматині тільки сполука НКС-187 інгібує майже на 40 % ПОЛ у системі неініційованого контролю.

4. Невисокі коефіцієнти кореляції між значеннями дескрипторів та рівнем АОА в більшості випадків не дають нам змоги дати кількісну оцінку досліджуваним взаємозв'язкам.

5. Виявлено деякі тенденції між розрахунковими значеннями параметрів досліджуваних сполук та їх біологічною дією, що після додаткових досліджень та уточнення на більшому об'ємі матеріалу може стати підґрунтям для формулювання загальних принципів механізму дії та підходу до створення антиоксидантів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Беленічев І.Ф., Левицький Є.Л., Губський Ю.І. та ін. Антиоксидантна система захисту організму // Совр. пробл. токсикол. – 2002. – № 3. – С. 24-31.
2. Беленічев І.Ф., Левицький Є.Л., Коваленко С.І. та ін. Продукти вільнорадикального перекисного окислення та методи їх ідентифікації // Совр. пробл. токсикол. – 2002. – № 4. – С. 9-14.
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. Перекисно-антиоксидантний механізм регуляції активності хроматину // Журн. АМН України. – 1997. – 3, № 2. – С. 275-282.

6. Губський Ю.І., Левицький Є.Л., Горюшко Г.Г.

та ін. Взаємодія нових похідних піридинкарбонових кислот з ізольованими фракціями ядерного хроматину клітин печінки інтактних та отруєних тетрахлометаном щурів // Совр. пробл. токсикол. – 2002. – № 2. – С. 26-33.

7. Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов. – М.: Наука, 1989. – С. 156-157.

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

9. Степанов Н.Ф. Квантовая механика и кван-

товая химия. – М.: Мир, 2001. – 519 с.

10. Bode J. On the reaction of fluorescamine with chromosomal proteins // Anal. Biochem. – 1979. – 99, № 2. – P. 274-280.

11. Halliwell B. Molecular Biology of Free Radicals in Human Diseases. – London: St. Lucia: OICA, 1999. – 410 p.

12. Halliwell B. Free radicals in Biology and Medicine. – Oxford Press, 1995. – 489 p.

13. Wilson and Gisvold's textbook of organic medicinal and pharmaceutical chemistry. – 11<sup>th</sup> ed. / edited by John H. Block, John M. Beale Jr. – New York: Lippincott Williams and Wilkins, 2004. – 991 p.

## АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ И ЕЁ ВЗАИМОСВЯЗЬ С КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИМИ И ДРУГИМИ ПАРАМЕТРАМИ СЕРУСОДЕРЖАЩИХ ХИНАЗОЛИНОВ

Ю.И. Губский, В.А. Никитин<sup>1</sup>, С.И. Коваленко<sup>1</sup>, И.Ф. Беленичев<sup>1</sup>,  
Е.Л. Левицкий, А.И. Авраменко<sup>1</sup>, А.Н. Марченко  
ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ  
ЗАПОРІЖСЬКИЙ ГОСУДАРСТВЕННИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ<sup>1</sup>

### Резюме

Изучена антиоксидантная активность ряда серосодержащих хиनाзолинов и проведены расчёты различных параметров этих соединений. Исследования показали, что синтезированные производные проявляют антиоксидантную активность (АОА) на всех моделях инициирования свободнорадикального окисления, превосходя или конкурируя при этом с эталонами сравнения, однако на модели поражения хроматина АОА оказалась довольно умеренной. Невысокие коэффициенты корреляции между значениями дескрипторов и уровнем АОА не дают нам возможности дать количественную оценку исследуемым взаимосвязям. Выявлены некоторые тенденции между расчётными значениями параметров соединений и их биологическим действием, что после дополнительных исследований и уточнения на большем объёме материала может стать основой для формулирования общих принципов механизма действия и подхода к созданию антиоксидантов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: серосодержащие хиназолины, антиоксидантная активность, квантово-химические расчёты, регрессионный анализ.

## ANTIOXIDANT ACTIVITY AND ITS CORRELATION WITH QUANTUM-CHEMICAL AND OTHER PARAMETERS OF SULFUR-CONTAINING QUINAZOLINES

Y.I. Hubsy, V.O. Nikitin<sup>1</sup>, S.I. Kovalenko<sup>1</sup>, I.F. Belenichev<sup>1</sup>,  
E.L. Levytsky, A.I. Avramenko<sup>1</sup>, O.M. Marchenko  
INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF AMS OF UKRAINE  
ZAPORIZHZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY<sup>1</sup>

### Summary

Antioxidant activity of a number of sulfur-containing quinazolines was studied and calculations of their various parameters were carried out. Investigations showed that synthesized derivatives have antioxidant activity in all models of initiation and they were more active than reference substances, however in the model of chromatin damage their antioxidant activity was moderate. Low values of correlation factors between calculated parameters and the levels of antioxidant activity didn't allow us to give the quantitative estimation to investigated interrelations. After additional research and giving a more precise definitions on a bigger set of data, revealed tendencies could be used as a basis for the formulating of general principles of antioxidant action and antioxidant development theory.

KEY WORDS: sulfur-containing quinazolines, antioxidant activity, quantum-chemical calculations, regression analysis.

Адреса для листування: В.О. Нікітін, Запорізький державний медичний університет, пр. Маяковського, 26, Запоріжжя, 69035, Україна.

## СИНТЕЗ І БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ 3-ГЕТЕРИЛКУМАРИНІВ З ЦИКЛАМИ ОКСАДІАЗОЛУ, ТРИАЗОЛУ, ТІАДІАЗОЛУ ТА ПРОДУКТІВ ЇХ ХІМІЧНИХ ПЕРЕТВОРЕНЬ

**К.М. Ситнік, С.М. Коваленко, В.П. Черних, Л.М. Вороніна, І.В. Сенюк, Г.Б. Кравченко**  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

*Шляхом рециклізації 2-імінокумарин-3-карбоксамідів під дією N-нуклеофільних реагентів синтезовано деякі похідні 3-гетерилкумаринів. Взаємодією 3-гетерилкумаринів з аліфатичними кетонами за умов трикомпонентної конденсації з амінами одержано 12-гетерил-8-окса-10-азатрицикло[7.3.1.0<sup>2,7</sup>]тридека-2,4,6-триєн-11-они. Досліджено протизапальну, антиоксидантну і діуретичну активність синтезованих сполук. Вивчено гостру токсичність найбільш активної сполуки, яка проявила високий рівень антиоксидантної та діуретичної активності. Виявлені біологічні властивості сполуки VIIIб – 16-(5-аніліно-1,3,4-тіадіазол-2-іл)-14-метил-2-окса-14-азатетрацикло[7.4.3.0<sup>1,10</sup>.0<sup>3,8</sup>]гексадека-3,5,7-триєн-15-ону дозволяють рекомендувати цю сполуку для поглибленого вивчення з метою створення на її основі лікарського препарату.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **3-гетерилкумарини, оксадіазол, триазол, тіадіазол, рециклізація.**

**ВСТУП.** Пошук нових біологічно активних субстанцій для створення на їх основі нових високоєфективних лікарських засобів – одна з актуальних проблем сучасної фармації. Пріоритетним напрямком наукових досліджень для розв'язання цієї проблеми є синтез модифікованих аналогів біологічно активних речовин (БАР) природного походження.

Похідні кумарину мають широкий спектр біологічної дії, і останнім часом інтерес до цього класу сполук не згасає: похідні кумарину проявляють протипухлинну [17, 27] і цитотоксичну дію відносно культур лейкемії HL-60 [16], культур раку шлунка SNU-1 і SNU-16 [29] та клітинних культур нирок *in vitro* [22], протизапальну [18, 21, 23], протитуберкульозну [20], антиоксидантну [23, 24, 26], діуретичну [28] активності. Вивчено здатність деяких кумаринів пригнічувати активність ВІЛ-1 протеази [25]. Серед цих сполук виявлено багато БАР, деякі з них використовують у медичній практиці: неодикумарин і синкумар (антикоагулянти), карбоксромен (антиангінальний засіб), бероксан, аміфурин і псоберан (фотосенсибілізуювальні засоби), виснадин і димідин (коронарні вазодилататори), ковалан (ангіопротектор) і т. ін.

Особливий інтерес становить дослідження фармакологічного потенціалу сполук, які поєд-

© К.М. Ситнік, С.М. Коваленко, В.П. Черних, Л.М. Вороніна, І.В. Сенюк, Г.Б. Кравченко, 2006.

нують у своїй структурі декілька фармакофорів. Це дозволяє динамічно модифікувати їх будову з метою вивчення залежності “структура–активність”. У цьому відношенні перспективним є вивчення 3-гетерилкумаринів; серед сполук даного класу було виявлено речовини з антиалергічною [11, 12], антианафілактичною та антиартритною [12], протизапальною, анальгетичною, мембраностабілізуювальною [6] активністю. Наведені факти спонукали нас синтезувати раніше не досліджені 3-гетерилкумарини з циклами оксадіазолу, триазолу та тіадіазолу, дослідити їх реакційну здатність з подальшим вивченням біологічних властивостей.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Синтез сполук здійснювали шляхом рециклізації 2-імінокумарин-3-карбоксаміду (I) дією бінуклофільних реагентів [5, 14]. Під впливом гідрозидів кислот та тіосемікарбазидів було одержано 3-(1,3,4-оксадіазол-2-іл)-кумарини (II) і 3-(5-N-R-аміно-1,3,4-тіадіазол-2-іл)кумарини (III) відповідно, під впливом 5-(2,4-диметилбензил)-5H-[1,2,4]триазино[5,6-b]індол-3-ілгідразину – амідразон кумарин-3-карбонової кислоти (V), який виявився зручним інтермедіатом у синтезі 3-(1,2,4-триазоліл)кумарину (VI) (схема 1).

Простота виконання, доступність реагентів та високі виходи кінцевих продуктів (табл. 1) дозволяють рекомендувати метод перетво-



рення 2-імінокумарин-3-карбоксаміду в різні 3-гетерилкумарини як препаративний.

Крім цього, нами вивчена реакційна здатність одержаних ансамблів гетероциклів. Раніше повідомлялось [2], що кумарини, які мають електроноакцепторні замісники в положенні 3, можуть вступати в трикомпонентну конденсацію з кетонами в присутності водних розчинів амінів. У результаті цього утворюються трициклічні місткові сполуки 2,6-метано-1,3-бензоксазоцинового типу. Дані сполуки цікаві тим, що серед них виявлено БАР [2, 19]. Цикли діазолів, які є р-електронodefіцитними системами, мають електроноакцепторні властивості, тому нами вивчено поведінку 3-гетерилкумаринів за умов трикомпонентної конденсації. Показано, що проведення реакції за м'яких умов – при кімнатній температурі в спиртовому середовищі – призводить до утворення 12-гетерил-8-окса-10-азатрицикло[7.3.1.0<sup>2,7</sup>]тридека-2,4,6-триєн-11-онів (VII) (схема 2).

Температури плавлення синтезованих сполук було визначено капілярним способом на приладі "ПТП" (М). ІЧ-спектри вимірювали на спектрофотометрі Specord M-80 в таблетках KBr (концентрація речовини – 1 %). Спектри ПМР – на приладі Warian WXR-400 в ДМСО-*D*<sub>6</sub>, внутрішній стандарт ТМС.

Синтез 3-[5-(3'-фторфеніл)-1,3,4-оксадіазоліл-2]-6-хлоркумарину (IIa) і 3-[5-(2'-гідроксифеніл)-1,3,4-оксадіазоліл-2]-6-

бромкумарину (IIб) здійснювали згідно з методикою [22].

Синтез 3-[5-N-(4'-карбетоксифеніламіно)-1,3,4-тіадіазол-2-іл]-кумарину (IIIa) і 3-[5-(3'-трифторметилфеніламіно)-1,3,4-тіадіазол-2-іл]-кумарину (IIIб) проводили за методикою [16].

Методика синтезу 3-(5-N-ацетиламіно-1,3,4-тіадіазол-2-іл)кумарину (IVa). 0,49 г (0,002 моль) 3-(5-аміно-1,3,4-тіадіазол-2-іл)кумарину кип'ятили в 10 мл оцтового ангідриду протягом 1 год. Реакційну суміш охолоджували. Осад, що випав, відфільтровували, промивали спиртом, сушили.

Методика синтезу 3-1-[5-(2,4-диметилбензил)-5*H*-[1,2,4]триазино[5,6-*b*]індол-3-іл]-5-метил-1*H*-1,2,4-триазол-3-іл-6-гексил-7-гідрокси-кумарину (VIa). Еквімолекулярну кількість (0,01 моль) 6-гексил-7-гідрокси-2-імінокумарин-3-карбоксаміду (I) і 5-(2,4-диметилбензил)-5*H*-[1,2,4]триазино[5,6-*b*]індол-3-ілгідразину нагрівали в 30 мл бутанолу-1 протягом 30 хв. Реакційну суміш охолоджували. Осад, що випав, відфільтровували, промивали спиртом, сушили.

Одержану сполуку (V) нагрівали в невеликій кількості оцтового ангідриду протягом 1 год. Реакційну суміш охолоджували. Осад, що випав, відфільтровували, промивали спиртом, сушили. Кристалізували із суміші пропанол-2 – ДМФА.

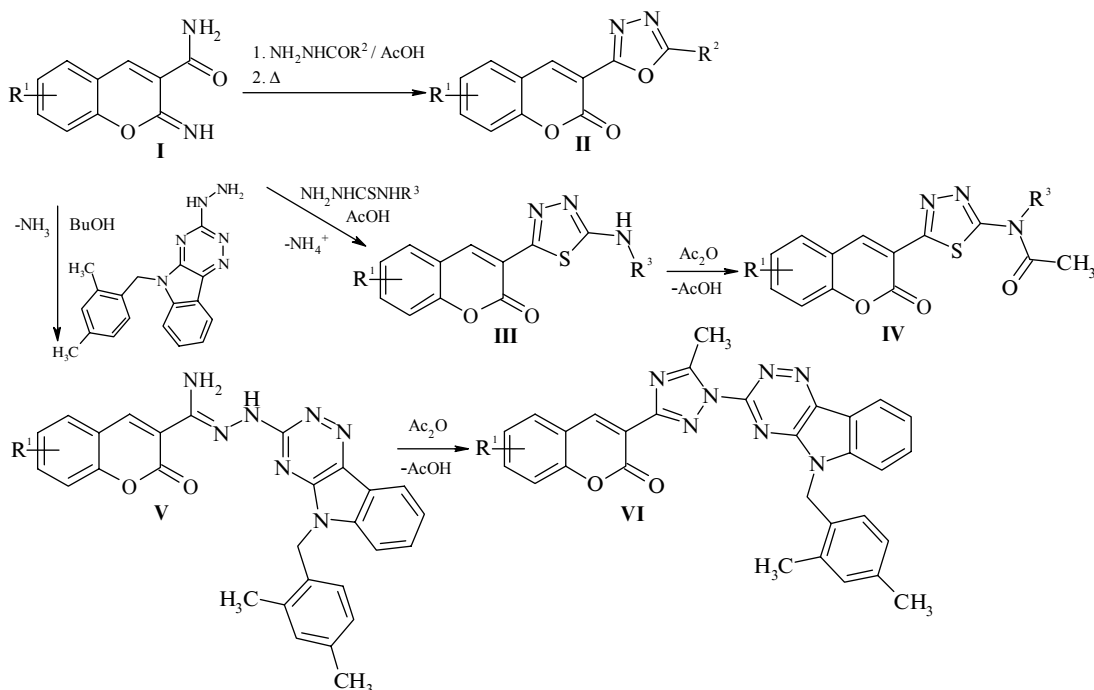


Схема 1. Спосіб одержання деяких 3-гетерилкумаринів.

IIa: R<sup>1</sup>=6-Cl; R<sup>2</sup>=3-F-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>

IIб: R<sup>1</sup>=6-Br; R<sup>2</sup>=2-OH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>

IIIa: R<sup>1</sup>=6-OCH<sub>3</sub>; R<sup>3</sup>=4-COOEt-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>

IIIб: R<sup>1</sup>=H; R<sup>3</sup>=3-CF<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>

IVa: R<sup>1</sup>=H; R<sup>3</sup>=H

VIa: R<sup>1</sup>=6-н-C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>, 7-OH

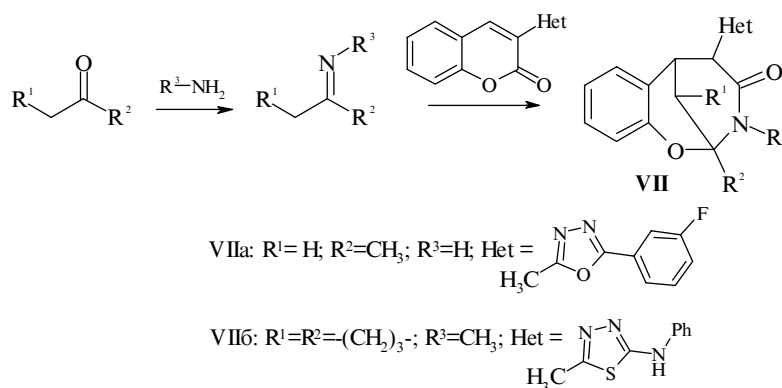


Схема 2.

Синтез 12-[5-(3-фторфеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл]-9-метил-8-окса-10-азатрицикло[7.3.1.0<sup>2,7</sup>]тридека-2,4,6-триєн-11-ону (VIIa) і 16-(5-аніліно-1,3,4-тіадіазол-2-іл)-14-метил-2-окса-14-азатетрацикло[7.4.3.0<sup>1,10</sup>.0<sup>3,8</sup>]гексадека-3,5,7-триєн-15-ону (VIIб) здійснювали за методикою [24].

Будову одержаних сполук підтверджено інструментальними методами (табл. 1, 2).

В ІЧ-спектрах синтезованих сполук (табл. 1) спостерігалися інтенсивні смуги валентних коливань С=О групи в ділянці 1708-1720 та коливання середньої інтенсивності в ділянці 1600 см<sup>-1</sup>, характерні для ароматичних С=С зв'язків. У результаті перетворення кумаринового циклу в 2,6-метано-1,3-бензоксазиноновий (VII) мав місце зсув смуги коливань С=О групи у низькочастотну ділянку спектра, де вона проявлялася при 1650-1670 см<sup>-1</sup>.

Як видно з таблиці 2, характерною особливістю спектрів ПМР 12-гетерил-8-окса-10-азатрицикло[7.3.1.0<sup>2,7</sup>]тридека-2,4,6-триєн-11-онів (VII) була наявність сигналів АМХ-системи протонів місткового фрагмента в ділянці сильних полів, а також відсутність синглетного сигналу в ділянці 8,67-9,05 м.д., який спостерігався в спектрах 3-гетерилкумаринів.

Для вивчення біологічних властивостей нових гетероциклічних сполук нами досліджені протизапальна, антиоксидантна та діуретична активність.

Протизапальну (антиексудативну) активність синтезованих сполук вивчали на моделі гострого карагенінового набряку [3, 4]. Досліди проводили на білих щурах обох статей масою 130-150 г. Набряк викликали шляхом субплантарного введення 0,1 мл 1 % розчину карагеніну. Досліджувані сполуки вводили перорально у вигляді емульсійного розчину (як емульгатор використовували твін-80) у дозах 10 і 25 мг/кг. Через 4 год (максимум розвитку набряку) вимірювали об'єм стоп ушкодженої лапки механічним онкометром за А.С. Захаржевським

[3]. Величину набряку розраховували на основі різниці об'ємів стоп щурів до та після введення флогогену. Антиексудативну активність досліджуваних сполук виражали у відсотках і визначали за здатністю зменшувати набряк у піддослідних тварин порівняно з контрольними щурами. Як препарат порівняння використовували ортофен (ЕД<sub>50</sub>=8 мг/кг). У результаті проведеного дослідження виявлено сполуки з антиексудативною активністю. Одержані результати представлено в таблиці 3.

Аналіз експериментальних даних показав, що досліджувані сполуки не виявили суттєвої антиексудативної активності відносно препарату порівняння.

Антиоксидантну активність синтезованих речовин вивчали на моделі ушкодження печінки тетраклорметаном (0,2 мл 25 % масляного розчину внутрішньоочеревино на 100 г маси тварини). Для оцінки антиоксидантної активності синтезованих сполук визначали вміст вторинного продукту перекисного окиснення ліпідів – малонового діальдегіду (МДА) та досліджували активність ферменту антиокисного захисту – каталази. Досліди проводили на білих щурах масою 110-130 г. Рівень МДА в гомогенаті печінки вимірювали за методом [15]. Каталазу в гомогенаті печінки і сироватці крові визначали методом, який базується на здатності пероксиду водню утворювати із солями молібдену стійкий забарвлений комплекс [7]. Досліджувані сполуки вводили в дозах 10 і 25 мг/кг, їх дію порівнювали з дією іонолу в еквівалентних дозах.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати експерименту (табл. 4) показали, що під впливом тетраклорметану виникла гіперактивація процесів вільнорадикального окиснення, яка характеризувалася підвищенням концентрації МДА у крові контрольних тварин порівняно з інтактними. Введені сполуки викликали пригнічення вільнорадикальних процесів, що

проявлялось зниженням концентрації МДА порівняно з контролем. Введення сполуки VIIб зменшувало вміст МДА суттєвіше, ніж препарат порівняння іонол у тій же дозі, – в 1,2 раза. Сполуки IIб і IIIа також показали достовірне

пригнічення перекисного окиснення ліпідів. Як свідчать дані, наведені в таблиці 5, активність каталази у контрольних тварин з патологією незначно нижча, ніж у інтактних, і значно нижча, ніж у щурів, яким вводили досліджувані

Таблиця 1 – Характеристики синтезованих сполук

| Сполука | Вихід, % | Тпл., °С | N, %<br>Обчисл.<br>Знайд. | ІЧ-спектри (KBr), см <sup>-1</sup> |             |             |                           |             |
|---------|----------|----------|---------------------------|------------------------------------|-------------|-------------|---------------------------|-------------|
|         |          |          |                           | $\nu_{N-H}$                        | $\nu_{C=O}$ | $\nu_{C=C}$ | $\nu_{C-H}$               | $\nu_{O-H}$ |
| IIa     | 87       | 257-8    | 8,17<br>8,21              | –                                  | 1720        | 1612        | 3028                      | –           |
| IIб     | 75       | 234-5    | 7,27<br>7,31              | –                                  | 1736        | 1628        | 3104, 3040                | 3240        |
| IIIa    | 71       | 278      | 9,92<br>9,78              | 3308                               | 1708        | 1608        | 3060, 2944,<br>2908       | –           |
| IIIб    | 65       | 287-8    | 14,64<br>14,59            | 3300                               | 1696        | 1604        | 3032                      | –           |
| IVa     | 84       | >300     | 14,63<br>14,41            | 3204                               | 1720        | 1608        | 3086, 2978                | –           |
| Vla     | 48       | 231-2    | 15,98<br>16,02            | –                                  | 1756        | 1600        | 3016, 2956,<br>2928, 2860 | 3448        |
| VIIa    | 64       | 211-2    | 11,50<br>11,67            | 3228                               | 1676        | 1612        | 3080, 2984,<br>2964       | –           |
| VIIб    | 71       | 231-2    | 13,39<br>13,42            | 3410                               | 1646        | 1600        | 3047, 2944                | –           |

Таблиця 2 – Спектри ПМР синтезованих сполук

| Сполука | Хімічний зсув $\delta$ , м.д. |                |   |   |
|---------|-------------------------------|----------------|---|---|
|         | NH<br>(1H, c)                 | 4-H<br>(1H, c) | H <sub>аром.</sub>  | Інші протони  |
| IIa     | –                             | 8,99           | 7,44 (1H, м, 42-H); 7,50 (1H, д, 8-H); 7,64-7,75 (2H, м, 52, 7-H); 7,83 (1H, д, 62-H); 7,94 (1H, д, 22-H); 8,02 (1H, с, 5-H)              | –   |
| IIб     | –                             | 9,01           | 7,04 (1H, т, 42-H); 7,09 (1H, д, 32-H); 7,44 (1H, д, 8-H); 7,74 (1H, т, 52-H); 7,84-7,89 (2H, м, 5,62-H); 8,17 (1H, д, 5-H)               | 10,15 (1H, с, OH)   |
| IIIa    | 10,75                         | 8,95           | 7,21 (1H, д, 8-H); 7,38 (1H, д, 7-H); 7,47 (1H, с, 5-H); 7,76 (2H, д, 2', 6'-H); 7,93 (2H, т, 3', 5'-H)                                   | 1,37 (3H, т, COOCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 4,30 (2H, т, COOCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 3,87 (3H, с, OCH <sub>3</sub> )   |
| IIIб    | 10,73                         | 9,01           | 7,25 (1H, д, 8-H); 7,40 – 7,58 (3H, м, 6,4', 5'-H); 7,72 (1H, т, 7-H); 7,86 (1H, д, 5-H); 7,96 (1H, д, 6'-H); 8,17 (1H, с, 2'-H)          | –   |
| IVa     | 12,56                         | 9,05           | 7,39-7,58 (2H, м, 6,8-H); 7,70 (1H, т, 7-H); 7,95 (1H, д, 5-H)  | 2,18 (3H, с, COCH <sub>3</sub> )  |
| Vla     | –                             | 8,67           | 6,82 (2H, м, 522, 622-H); 7,07 (3H, с, 322-H); 7,30-7,44 (3H, м, (72,62,8)-H); 7,70 (1H, т, 82-H); 7,91 (1H, с, 5-H); 8,24 (1H, д, 92-H)  | 0,84 (3H, т, CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ); 1,28 (6H, м, CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ); 1,55 (2H, м, CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ); 2,58 (2H, м, CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ); 2,20 (3H, с, 222-CH <sub>3</sub> ); 2,35 (3H, с, CH <sub>3</sub> ); 2,41 (3H, с, 422-CH <sub>3</sub> ); 5,48 (2H, с, CH <sub>2</sub> ); 10,90 (1H, с, OH) |
| VIIa    | 8,92                          | –              | 6,79 (1H, д, 3-H); 6,61 (1H, т, 4-H); 7,15 (1H, т, 5-H); 6,40 (1H, д, 6-H); 7,21-7,40 (2H, м, 2', 4'); 7,54 (1H, т, 5'); 7,81 (1H, д, 5') | 1,69 (3H, с, CH <sub>3</sub> ); 2,10 (1H, дд, CH <sub>2</sub> ); 2,34 (1H, дд, CH <sub>2</sub> ); 3,48 (1H, м, 1-H); 4,74 (1H, с, 12-H)   |
| VIIб    | 10,20                         | –              | 7,18 (1H, д, 3-H); 6,81(1H, т, 4-H); 6,97 (1H, т, 5-H); 6,67 (1H, д, 6-H); 7,31 (3H, м, 3', 4', 5'); 7,56 (2H, м, 2', 6')                 | 1,21 (1H, м, CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ); 1,73-2,04 (4H, м, CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ); 2,22 (1H, м, CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ); 2,79 (1H, м, CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ); 2,95 (3H, с, NCH <sub>3</sub> ); 3,71 (1H, м, 1-H); 4,08 (1H, с, 12-H)   |

сполуки. Це вказує на те, що при застосуванні синтезованих сполук спостерігалася тенденція до зниження гіперактивності процесів вільнорадикального окиснення і нормалізації балансу в системі "перекисне окиснення ліпідів – антиоксидантний захист".

Таким чином, порівняльний аналіз ефективності вивчених сполук показав, що найбільшу антиоксидантну активність проявила сполука VIIб у дозі 25 мг/кг. Дана сполука ефективніша, ніж еталонний препарат.

Попередні експериментальні дослідження показали, що синтетичні похідні кумарину проявляли діуретичну дію [6, 28], причому ці сполуки зменшували секрецію альдостерону. Низька токсичність та специфічний вплив на ниркову функцію цих сполук дали змогу запропонувати створення нового ряду препаратів з діуретичною активністю на основі кумаринів. Вплив нових синтезованих сполук на видільну функцію нирок вивчали на білих щурах масою 120-160 г за методом [1]. Досліджувані речовини у вигляді емульсії, стабілізованої твіном-

80, вводили у шлунок спеціальним зондом у дозах 10 і 25 мг/кг за 30 хв до водного навантаження (3 мл/100 г маси тіла). Показником діуретичної активності була кількість сечі, яку виділяли тварини протягом 4 год. Вивчення діуретичної активності синтетичних кумаринів проводили порівняно з діакарбом, який широко застосовують у медичній практиці, оскільки він схожий за структурою з досліджуваними сполуками. Як свідчать результати дослідження (див. табл. 5), речовина IIа проявила активність на рівні 50 % препарату порівняння, а активність сполуки VIIб у дозі 25 мг/кг перевищила активність діакарбу в 1,3 раза. Враховуючи високу активність сполуки VIIб, виявлену в експерименті, доцільно було дослідити її токсичність.

Для визначення гострої токсичності ми скористалися експрес-методом визначення середньосмертельних доз ( $LD_{50}$ ) хімічних речовин [10]. Для визначення середньосмертельних доз ( $LD_{50}$ ) попередньо визначали інтервал токсичних доз на мишах при внутрішньошлунковому введенні (табл. 6).

Таблиця 3 – Антиексудативна активність синтезованих сполук

| Сполуки, які вводили тваринам | Пригнічення набряку, % |               |
|-------------------------------|------------------------|---------------|
|                               | доза 10 мг/кг          | доза 25 мг/кг |
| IIIa                          | 30                     | 38            |
| IIб                           | 30                     | 26            |
| VIa                           | 14                     | 11            |
| VIIa                          | 28                     | 6             |
| Ортофен у дозі 8мг/кг         | 68                     |               |

Таблиця 4 – Антиоксидантна активність синтезованих сполук

| Експериментальні тварини    | Групи тварин |                | Активність ката-лази у сироватці крові, мкат/с·л | Активність ката-лази у гомогенаті печінки, мкат/с·л | Вміст МДА у гомогенаті печінки, ммоль/г | Антиоксидантна активність, % |
|-----------------------------|--------------|----------------|--|---|---|------------------------------|
|                             | Сполуки      | Доза, мг/кг    |  |   |   |                              |
| Експериментальні тварини    | VIIб         | 25             | 1,1366±0,0600*                                   | 2,2923±0,0130*                                      | 14,68±1,19**                            | 84,39                        |
|                             | IIa          | 10             | 0,4662±0,0400                                    | 0,8658±0,0500                                       | 172,80±40,45**                          | –                            |
|                             |              | 25             | 1,0344±0,0700*                                   | 0,9282±0,0900*                                      | 50,20±3,11**                            | 46,61                        |
|                             | IIб          | 25             | 1,2343±0,0900*                                   | 0,8658±0,0600*                                      | 39,52±0,68**                            | 57,97                        |
|                             | IIIa         | 10             | 1,265±0,0800*                                    | 1,03±0,11   | 37,39±2,33**                            | 60,23                        |
| 25                          |              | 1,4652±0,0600* | –  | 51,28±1,19**  | 45,46                                   |                              |
| Тварини, яким вводили іонол | 10           | 1,247±0,0500*  | 0,8436±0,0400                                    | 43,00±1,46**  | 53,41                                   |                              |
|                             | 25           | 1,1455±0,0900  | 0,8854±0,0800                                    | 27,77±1,36**  | 70,47                                   |                              |
| Контрольні тварини          |              |                | 0,622±0,0300                                     | 0,5816±0,0700                                       | 94,01±2,07                              | –                            |
| Інтактні тварини            |              |                | 0,7659±0,1600                                    | 0,9157±0,0900                                       | 29,64±2,33**                            | –                            |

Примітка. \* –  $p \leq 0,05$  вірогідно порівняно з інтактними тваринами; \*\* –  $p \leq 0,05$  вірогідно порівняно з контрольними тваринами.

Таблиця 5 – Діуретична активність синтезованих сполук

| Сполуки, які вводили тваринам | Діуретична активність, % |               |
|-------------------------------|--------------------------|---------------|
|                               | доза 10 мг/кг            | доза 25 мг/кг |
| IIa                           | 56,9                     | 49,8          |
| IIIб                          | 25,1                     | 8,1           |
| VIIб                          | 50,3                     | 127,9         |
| IVa                           | 20,7                     | 9,0           |
| Діакарб                       | 94,75                    |               |

Базуючись на отриманих результатах, які свідчать про низьку токсичність сполуки, було збільшено дозу, а також проведено вивчення гострої токсичності при внутрішньоочеревинному способі введення. Для цього вибрали дози серед запропонованих авторами [3]. Вибрані дози – 9630 мг/кг (1-ша група), 11210 мг/кг (2-га група) для внутрішньошлункового введення, 9639 мг/кг (3-тя група) і 11210 мг/кг (4-та група) для внутрішньоочеревинного способу введення. Дослідження проводили на білих мишах масою 18-25 г. Результати наведено в таблиці 7.

Згідно з методичними порадами [3], вивчали гостру токсичність на іншому виді експериментальних тварин. Дослідження проводили на щурах обох статей масою 180-200 г по три особини в кожній групі, сполуку вводили внутрішньоочеревинно в дозах 5620, 6300, 6680 мг/кг. Результати наведено в таблиці 8.

Як видно з даних таблиці 8, введення вказаних доз тваринам не призводило до їх загибелі. Згідно з методичними порадами щодо доклінічного вивчення лікарських засобів [3], лімітним показником при визначенні гострої токсичності була максимальна доза четвертого класу токсичності (малотоксичні сполуки) з ура-

хуванням шляху введення. Для внутрішньошлункового введення – 5000-15000 і для внутрішньоочеревинного – 101-1000 мг/кг маси тіла. Таким чином, для внутрішньошлункового введення ця доза складала 5000 мг/кг маси тіла. Якщо при цьому не спостерігається загибелі тварин, введення більшої дози вважається недоцільним. Тобто, за класифікацією К.К. Сидорова [13], сполука VIIб може бути віднесена до практично нетоксичних.

Проведено визначення ряду біохімічних показників у сечі, спрямованих на виявлення можливого механізму дії досліджуваної сполуки.

Більшість діуретичних засобів, які застосовують у медичній практиці, виводять з організму електроліти, що є важливими компонентами для нормального функціонування організму, зокрема серця, нирок, печінки. До таких електролітів відносять іони  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$  [8].

Тому доцільно було дослідити вплив сполуки VIIб на електролітний баланс порівняно з діакарбом.

Відомо [8], що діуретичний ефект діакарбу базується на пригніченні активності карбоангідази в нирках і зміні лужної рівноваги в

Таблиця 6 – Попередні дослідження гострої токсичності сполуки VIIб на мишах при внутрішньошлунковому введенні

| № за/п | Доза, мг/кг | Кількість тварин | Летальність / Кількість тварин |
|--------|-------------|------------------|--------------------------------|
| 1      | 5200        | 3                | 0/3                            |
| 2      | 5800        | 3                | 0/3                            |
| 3      | 6820        | 3                | 0/3                            |

Таблиця 7 – Попередні дослідження гострої токсичності сполуки VIIб на мишах при внутрішньошлунковому та внутрішньоочеревинному способах введення

| № за/п | Доза, мг/кг | Кількість тварин | Летальність / Кількість тварин |
|--------|-------------|------------------|--------------------------------|
| 1      | 9360        | 3                | 0/3                            |
| 2      | 11210       | 3                | 0/3                            |
| 3      | 9360        | 3                | 0/3                            |
| 4      | 11210       | 3                | 0/3                            |

Таблиця 8 – Гостра токсичність сполуки VIIб на щурах при внутрішньоочеревинному способі введення

| № за/п | Доза, мг/кг | Кількість тварин | Летальність / Кількість тварин |
|--------|-------------|------------------|--------------------------------|
| 1      | 5620        | 3                | 0/3                            |
| 2      | 6300        | 3                | 0/3                            |
| 3      | 6680        | 3                | 0/3                            |

Таблиця 9 – Показники рН, вміст катіонів  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  в сечі при введенні сполуки VIIб і діакарбу

| Групи тварин                                     | рН   | Вміст $\text{Na}^+$ , ммоль/л | Вміст $\text{K}^+$ , ммоль/л |
|--|------|-------------------------------|------------------------------|
| Тварини, яким вводили спол. VIIб у дозі 10 мг/кг | 8,6  | –                             | 7,57                         |
| Тварини, яким вводили спол. VIIб у дозі 15 мг/кг | 8,64 | –                             | 8,49                         |
| Тварини, яким вводили спол. VIIб у дозі 25 мг/кг | 8,75 | 6,62                          | 8,49                         |
| Тварини, яким вводили діакарб у дозі 3 мг/кг     | 8,82 | 19,59                         | 13,5                         |
| Контрольні тварини                               | 8,5  | –                             | 3,98                         |

організмі. Пригнічення карбоангідрази зменшує утворення в нирках вугільної кислоти і реабсорбцію бікарбонату епітелієм каналців; відбувається посилення виділення із сечею  $\text{Na}^+$ ,  $\text{HCO}_3^-$ , разом із тим, значно збільшується виділення води; рН сечі підвищується. Під впливом діакарбу також збільшується виділення іонів  $\text{K}^+$ .

Нами досліджено рівень рН, вміст іонів  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  (табл. 9).

Як свідчать дані таблиці 9, сполука VIIб незначно підвищує значення рН сечі, що визначається вмістом іонів  $\text{HCO}_3^-$ . Проте такий вплив сполуки VIIб у дозі 25 мг/кг менш виражений, ніж у препарату порівняння – діакарбу. Іони  $\text{K}^+$  і  $\text{Na}^+$  в сечі визначали методом полум'яної фотометрії полум'яним аналізатором рідини ПАЖ-2 [9].

Дослідження вмісту іонів  $\text{K}^+$  і  $\text{Na}^+$  показали, що діакарб більшою мірою виводить ці катіони, ніж сполука VIIб у дозах 10, 15, 25 мг/кг.

Таким чином, сполука VIIб має високу діуретичну активність (у дозі 25 мг/кг) і за механізмом дії нагадує препарат порівняння – діакарб. Перевагою сполуки VIIб є незначний вплив на рН сечі, а також помірне виділення іонів  $\text{K}^+$  і  $\text{Na}^+$ .

ВИСНОВКИ. 1. Розроблено препаративні методи синтезу 3-(5-R-1,3,4-оксадіазол-2-іл)кумаринів, 3-(5-N-R-аміно-1,3,4-тіадіазол-2-іл)кумаринів, 3-[5-алкіл-1-R-1H-1,2,4-триазол-3-іл]кумаринів, 3-(3-R-1,2,4-триазоліл-5)кумаринів, що базуються на рециклізації 2-імінокумарин-3-карбоксаміду під дією різноманітних N-нуклеофільних реагентів. Запропоновано оптимальні умови проведення реакцій.

2. На основі одержаних класів сполук вперше було синтезовано трициклічні системи метанобензоксазоцинового типу.

3. Будову синтезованих сполук доведено за допомогою інструментальних методів ІЧ-, ПМР-спектроскопії, даними елементного аналізу.

4. Проведено фармакологічний скринінг діуретичної, протизапальної та антиоксидантної активності синтезованих сполук. За результатами скринінгу виявлено активні сполуки.

5. Виявлені біологічні властивості сполуки VIIб – 16-(5-аніліно-1,3,4-тіадіазол-2-іл)-14-метил-2-окса-14-азатетрацикло[7.4.3.0<sup>1,10</sup>.0<sup>3,8</sup>]гексадека-3,5,7-триєн-15-ону дозволяють рекомендувати цю сполуку для поглибленого вивчення з метою створення на її основі лікарського препарату.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Берхин Е.Б. Методы изучения действия новых химических соединений на функцию почек // Хим.-фарм. журн. – 1977. – 11, № 5. – С. 3-11.
2. Білов І.Є., Черних В.П., Коваленко С.М., Вошко Т.В. Синтез і біологічна активність похідних 9-метил-8-окса-10-азатрицикло[7.3.1.0 2,7]тридека-2,4,6-трієн-11-ону та 2-окса-15-азатетрацикло[7.5.3.0 1,10.0 3,8]гептадека-3,5,7-трієн-16-ону // Фізіол. активні речовини. – 1998. – № 1. – С. 12-15.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / За ред. О.В. Стефанова. – К.: Видавничий дім "Авіцена", 2001. – С. 292-297.
4. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: В 2 т. – Мн.: Беларусь, 2000. – Т. 2. – С. 270-277.
5. Коваленко С.Н., Сытник К.М., Никитченко В.М. и др. Рециклізація 2-іміно-2Н-1-бензопіранов под действием нуклеофильных реагентов. 4. Использование 2-(N-арилгидразоно)кумарин-3-карбоксамидов для синтеза 3-(1,3,4-оксадиазоліл-2)кумаринов // ХГС. – 1999. – № 2. – С. 190-194.
6. Коваленко С.Н., Черных В.П., Белоконь Я.В. и др. Использование синтетических эквивалентов биполярных [C2]2+(2)-синтонов для получения биологически активных ансамблей гетероциклов с

- кумариновыми звеньями // Каз. мед. журн. – 1995. – 76, № 3. – С. 189-193.
7. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. и др. Метод определения каталазы // Лаб. дело. – 1998. – № 1. – С. 12-15.
8. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. – Изд-е 13-е, новое. – Харьков: Торсинг, 1997. – Т. 1. – 560 с.
9. Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. и др. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – С. 215-221.
10. Пастушенко Т.В., Маруший Л.Б., Жуков А.А. Экспресс-метод определения среднесмертельных доз химических веществ // Гигиена и санитария. – 1985. – № 6. – С. 46-49.
11. Пат. США 4059704, МКИ А 61 К 31/41. Tetrazole coumarin derivatives: D.R. Buckle, B.C.S. Cantello, H. Smith (Великобритания); Beecham Group Limited – № 672753; Заявл. 01.04.76; Опубл. 22.11.77; НКІ 424/269. – 6 с.
12. Пат. США 4902688, МКИ А 61 К 31/495. 4-(3-Coumarinyl)-thiazole-derivatives with anti-allergic, anti-anaphylactic, antiarthritic activity and compositions containing them: D. Chiarino, G.C. Grancini, V. Frigeni,

A. Carezzi (Италия); Zambon Group S.p.A. – № 172230; Заявл. 23.03.88; Опубл. 20.02.90; НКИ 514/253.

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

14. Ситнік К.М., Білов І.Є., Коваленко С.М. Синтез та біологічна активність 3-(5-R-аміно-1,3,4-тіадіазол-2-іл)кумаринів // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2003. – 1, вип. 1-2. – С. 71-74.

15. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. – 1977. – С. 66-68.

16. Chau-Jong Wang, Yu-Jin Hsieh, Chia-Yih Chu et al. Inhibition of cell cycle progression in human leukemia HL-60 cells by esculetin // Cancer Letters. – 2002. – 183, № 2. – P. 163-168.

17. Chimichi S., Voccacini M., Cosimelli B. et al. New geparvarin analogues from 7-(2-oxoethoxy)coumarins as efficient in vitro antitumoral agents // Tetrahedron Letters. – 2002. – 43, № 42. – P. 7473-7476.

18. Curini M., Epifano F., Maltese F. et al. Synthesis and antiinflammatory activity of natural and semisynthetic geranyloxycoumarins // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. – 2004. – 14, № 9. – P. 2241-2243.

19. Depin J.-C., Betbeder-Matibet A., Bonhomme Y. et al. Pharmacology of lortalamine, a new potent nontricyclic antidepressant // Arzneim.-Forsch. – 1985. – 35, № 11. – P. 1655-1662.

20. Gertjan J.M. den Hartog, Guido R.M.M. Haenen, Erik Vegt et al. Superoxide dismutase: the balance between prevention and induction of oxidative damage // Chemico-Biological Interactions. – 2003. – 145, № 1. – P. 33-39.

21. Ghate M., Manohar D., Kulkarni V. et al. Synthesis of vanillin ethers from 4-(bromomethyl) couma-

rins as anti-inflammatory agents // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2003. – 38, № 3. – P. 297-302.

22. Gregory J. Finn, Emma Kenealy, Bernadette S. et al. In vitro cytotoxic potential and mechanism of action of selected coumarins, using human renal cell lines // Cancer Letters. – 2002. – 183, № 1. – P. 61-68.

23. Karaly N., Kocabalkanli A., Gürsoy A., Ate Ö. Synthesis and antitubercular activity of 4-(3-coumarinyl)-3-cyclohexyl-4-thiazolin-2-one benzylidenehydrazones // Pharmacol. – 2002. – 57, № 7. – P. 589-593.

24. Khan N., Sharma S., Sultana S. Amelioration of ferric nitrilotriacetate (Fe-NTA) induced renal oxidative stress and tumor promotion response by coumarin (1,2-benzopyrone) in Wistar rats // Cancer Letters. – 2004. – 210, № 1. – P. 17-26.

25. Lunney E.A., Hagen S.E., Domagala J.M. et al. A novel nonpeptide HIV-1 protease inhibitor: elucidation of binding mode and its application of the design of related analogs // J. Med. Chem. – 1994. – 37, № 17. – P. 2664-2677.

26. Nicolaidis D.N., Gautam D.R., Litinas K.E. et al. Synthesis and evaluation of the antioxidant and anti-inflammatory activities of some benzo[*l*]kellactone derivatives and analogues // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2004. – 39, № 4. – P. 323-332.

27. Reddy N.S., Mallireddigari M.R., Cosenza S. et al. Synthesis of new coumarin 3-(N-aryl) sulfonamides and their anticancer activity // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. – 2004. – 14, № 15. – P. 4093-4097.

28. Selleri R., Caldini O., Spano R. et al. Synthesis of new derivatives of coumarin and analysis of their action // Arzneim.-Forsch. – 1965. – 15, № 8. – P. 910-913.

29. Yang Y.M., Hyun J.W., Sung M.S. et al. The cytotoxicity of psoralidin from *Psoralea corylifolia* // Planta Med. – 1996. – 62, № 2. – P. 353-354.

## СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ 3-ГЕТЕРИЛКУМАРИНОВ С ЦИКЛАМИ ОКСАДИАЗОЛА, ТРИАЗОЛА, ТИАДИАЗОЛА И ПРОДУКТОВ ИХ ХИМИЧЕСКИХ ПРЕВРАЩЕНИЙ

К.Н. Сытник, С.Н. Коваленко, В.П. Черных, Л.Н. Воронина, И.В. Сенюк, А.Б. Кравченко  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

### Резюме

Путём рециклизации 2-иминокумарин-3-карбоксамидов под действием N-нуклеофильных реагентов синтезированы некоторые производные 3-гетерилкумаринов. Взаимодействием 3-гетерилкумаринов с алифатическими кетонами в условиях трехкомпонентной конденсации с аминами получены 12-гетерил-8-окса-10-азатрицикло[7.3.1.0<sup>2,7</sup>]тридека-2,4,6-триен-11-оны. Исследована противовоспалительная, антиоксидантная и диуретическая активность синтезированных соединений. Изучена острая токсичность наиболее активного соединения, которое проявило высокий уровень антиоксидантной и диуретической активности. Выявленные биологические свойства соединения VIIIб – 16-(5-анилино-1,3,4-тиадиазол-2-ил)-14-метил-2-окса-14-азатетрацикло[7.4.3.0<sup>1,10</sup>.0<sup>3,8</sup>]гексадека-3,5,7-триен-15-она позволяють

рекомендовать это соединение для углубленного изучения с целью создания на его основании лекарственного препарата.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **3 гетерилкумарины, оксадиазол, триазол, тиadiaзол, рециклизация.**

## **SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF 3-HETERYLCUMARINS WITH CYCLES OF OXADIASOL, TRIASOL, TIADIASOL AND PRODUCTS OF THEIR CHEMICAL CONVERSIONS**

**K.M. Sytnik, S.M. Kovalenko, V.P. Chernykh, L.M. Voronina, I.V. Seniuk, G.B. Kravchenko**  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

### **Summary**

*Some of 3-heterylcoumarin derivatives were synthesized by means of recyclization of 2-iminocoumarin-3-carboxamides under the action of N-nucleophilic reagents. The interaction of 3-heterylcoumarins with aliphatic ketones under conditions of three-component condensation with amines has been studied and a method of 12-heteryl-8-oxa-10-azatricyclo[7.3.1.0<sup>2,7</sup>]trideca-2,4,6-trien-11-ons synthesis has been suggested. The pharmacological screening of the anti-inflammatory, antioxidative and diuretic activities of the synthesized compounds has been carried out. Discovered biological properties of the compound VIIIb – 16-(5-anilino-1,3,4-tiadiasol-2-il)-14-methyl-2-oxa-14-azatetracyclo [7.4.3.0<sup>1,10</sup>.0<sup>3,8</sup>] hexadeca-3,5,7-trien-15-on enable to recommend this compound for deeper investigation with a purpose of creation of medical preparation on its basis.*

KEY WORDS: **3-heterylcoumarins, oxadiasol, triasol, tiadiasol, recyclization.**

Адреса для листування: К.М. Ситнік, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.



## ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИРАДИКАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КРІОПРОТЕКТОРІВ ТА ЇХ ВПЛИВУ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ ПОЛ У СИСТЕМІ “ТРОМБОЦИТИ–ПЛАЗМА”

**О.В. Книш<sup>1</sup>, С.Є. Овсянніков<sup>1</sup>, Ю.В. Нікітченко<sup>2</sup>, А.М. Компанієць<sup>1</sup>**  
ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ НАН УКРАЇНИ, ХАРКІВ<sup>1</sup>  
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В.Н. КАРАЗІНА<sup>2</sup>

*Вивчали антирадикальну активність ряду кріопротекторів у модельній системі та їх вплив на прооксидантно-антиоксидантну рівновагу в системі “тромбоцити–плазма”. Встановлено, що здатність до перехоплення гідроксильних радикалів не визначає характеру впливу кріопротекторів на інтенсивність ПОЛ.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** тромбоцити, кріопротектори, гідроксильний радикал, ПОЛ.

**ВСТУП.** Кріоконсервування є оптимальним для розв’язання проблеми довгострокового зберігання тромбоцитів крові людини, потреба в яких зростає з кожним роком. Та ефективність методів кріоконсервування цього компонента крові на сучасному етапі не можна назвати задовільною [2]. Відомо, що активація вільнорадикальних процесів при заморожуванні-відігріванні сприяє поглибленню структурної дезорганізації мембран та розвитку їх деструкції [11]. Дані літератури свідчать про існування кореляційної залежності між інтенсивністю ПОЛ та агрегаційною, ретракційною здатністю, реакцією тромбоцитів на гіпотонічний шок [3, 4, 5]. Існує припущення, що основною регулювальною ланкою активації тромбоцитів, підвищення їх адгезивності та агрегаційних властивостей є первинні продукти ПОЛ [3]. За даними літератури, деяким кріопротекторам притаманна власна антиоксидантна активність, яка, безумовно, є складовою частиною кріозахисних властивостей цих речовин [9]. Але кріопротектори як мембранотропні речовини, змінюючи структурну організацію мембрани, знижують резистентність останньої до окиснювальних впливів [7]. З огляду на це, зрозумілими є спроби зменшити інтенсивність процесів вільнорадикального окиснення ліпідів шляхом введення до середовища кріоконсервування антиоксидантів різного походження (токоферолу, селено-DL-

метіоніну, іонолу і т. ін.) [6, 11]. Та перш ніж застосовувати останні, доцільним було б вивчити антиоксидантні властивості самих кріопротекторів, що дозволить прояснити окремі аспекти молекулярних механізмів дії кріопротекторів, які значною мірою залишаються поки що нез’ясованими.

Метою даного дослідження було вивчити антирадикальні властивості ряду кріопротекторів у модельній системі та вплив кріопротекторів на інтенсивність ПОЛ у системі “тромбоцити–плазма”.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Вивченню підлягав ряд кріопротекторів різних класів хімічних сполук: гліцерин (ГЛ), 1,2-пропандіол (1,2-ПД), диметилформамід (ДМФА), диметилацетамід (ДМАЦ), диметилсульфоксид (ДМСО) в кінцевій концентрації 0,5 М та оксіетильований гліцерин зі ступенем полімеризації 5 (ОЕГ<sub>n</sub>=5) в кінцевій концентрації 0,25 і 0,125 М. Обрані концентрації є близькими до загальноприйнятих при кріоконсервуванні тромбоцитів крові людини. Дослідження здатності кріопротекторів до перехоплення гідроксильних радикалів у модельній системі їх генерації “дезоксирибоза–перекис водню–залізо–аскорбат” проводили за методом [10]. Бідну на тромбоцити плазму (БТП) та концентрат тромбоцитів (КТ) одержували шляхом диференційного центрифугування донорської крові, заготовленої на консерванті “Глюгіцир” у пластикові мішки “Гемакон 500/300/300” за методом [1].

© О.В. Книш, С.Є. Овсянніков, Ю.В. Нікітченко, А.М. Компанієць, 2006.

Концентрація тромбоцитів у КТ становила  $2-3 \times 10^{12}/\text{л}$ . Додавання розчинів кріопротекторів до концентрату тромбоцитів у співвідношенні 1:1 здійснювали з урахуванням проникності мембрани цих клітин для кріопротекторів (ДМСО, ДМАЦ, ДМФА, 1,2-ПД) протягом 1 хв, гліцерину та ОЕГ $n=5$  протягом 3-5 хв. Вміст ТБК-АП у системі визначали за методом [8] після експозиції суспензії тромбоцитів з розчинами кріопротекторів протягом 15 та 30 хв при температурі 22 °С. Інтенсивність індукованого ПОЛ визначали за швидкістю накопичення МДА у середовищі, що містить 5 мМ трис-НСІ-буфер (рН=7,4) і 100 мкМ  $\text{Fe}_2\text{SO}_4$ , після 1, 15, 30 хв інкубації при 37 °С. Показники індукованого ПОЛ у системі “тромбоцити–плазма–кріопротектор” порівнювали з контролем (система “тромбоцити–плазма” без кріопротектора). Статистичну обробку результатів досліджень проводили за допомогою комп’ютерної програми “MS Excel XP”.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У таблиці 1 наведено результати дослідження антирадикальних властивостей ряду кріопротекторів у модельній системі. Показником досліджуваного параметра була концентрація кріопротектора, при якій досягають 50 % перехоплення гідроксильних радикалів порівняно з контролем ( $\text{IC}_{50}$ ). Згідно з даними таблиці, всі кріопротектори тією чи іншою мірою мають здатність перехоплювати гідроксильні радикали. Найбільш ефективними за даною властивістю кріопротекторами виявилися ДМСО та 1,2-ПД. За величиною досліджуваного показника кріопротектори можна розташувати у порядку зростання:  $\text{ДМСО} < 1,2\text{-ПД} < \text{ОЕГ}n=5 < \text{ДМАЦ} < \text{ДМФА} < \text{гліцерин}$ .

Рисунок 1 дає можливість порівняти рівень вмісту ТБК-АП у БТП і системі “тромбоцити–плазма” без кріопротектора та за наявності ряду кріопротекторів. Рівень вмісту ТБК-АП у системі “тромбоцити–плазма” (контроль) перевищує такий у БТП у 1,5 раза. Отже, за даних умов експерименту 1/3 загального рівня ТБК-АП у системі забезпечується мембранними компонентами клітин. Протягом 30 хв не відбувається вірогідних змін вмісту ТБК-АП як у БТП, так і в окремо взятих системах “тромбоцити–плазма” та “тромбоцити–плазма–кріопротектор”. Але введення у систему “тромбоцити–плазма” ДМСО, гліцерину та ОЕГ $n=5$  при-

зводить до достовірного підвищення вмісту ТБК-АП порівняно з контролем. Не виявлено вірогідних відмінностей у вмісті ТБК-АП у системі “тромбоцити–плазма” за присутності ДМАЦ, ДМФА та 1,2-ПД. Механізм, за яким відбувається накопичення ТБК-АП у системі при введенні у неї ДМСО, гліцерину та ОЕГ $n=5$ , залишається нез’ясованим. Можна лише зробити припущення, що дані кріопротектори сприяють збільшенню інтенсивності вільнорадикального окиснення компонентів мембран за рахунок зміни їх структурної організації та шляхом пригнічення активності ферментних і неферментних антиоксидантних систем клітин або плазми. Правильність останнього припущення слід перевірити, дослідивши вплив цих кріопротекторів на системи антиоксидантного захисту.

Рисунок 2 ілюструє динаміку змін інтенсивності індукованого іонами заліза ПОЛ протягом 30 хв у системах “тромбоцити–плазма” та “тромбоцити–плазма–кріопротектор”. Введення у систему “тромбоцити–плазма” іонів заліза супроводжується достовірним підвищенням рівня МДА у системі на 15 та 30 хв експозиції. Результати дослідження свідчать про те, що присутність у системі таких кріопротекторів, як гліцерин та ОЕГ $n=5$ , призводить до вірогідного зростання інтенсивності індукованого іонами заліза ПОЛ у системі “тромбоцити–плазма” порівняно з контролем. Виявлено тенденцію до підвищення інтенсивності індукованого ПОЛ у системі після введення у неї кріопротектора ДМСО. Зростання інтенсивності як індукованого, так і неіндукованого ПОЛ у системі “тромбоцити–плазма” за присутності ДМСО, гліцерину та ОЕГ $n=5$ , ймовірно, свідчить про дестабілізуювальну дію кріопротекторів на мембрани тромбоцитів. Інтенсивність індукованого ПОЛ у системі за присутності кріопротекторів ДМАЦ, 1,2-ПД, ДМФА залишається на рівні контролю. Виходячи з цього, можемо припустити, що вищезгадані кріопротектори істотно не впливають на прооксидантно-антиоксидантний баланс у досліджуваній системі, тому їх можна вважати перспективними при розробці нових кріозахисних середовищ.

Нам не вдалося виявити кореляційної залежності між показниками досліджених параметрів: здатністю кріопротекторів до перехоп-

Таблиця 1 – Концентрації кріопротекторів, при яких досягають 50 % перехоплення гідроксильних радикалів ( $\text{IC}_{50}$ )

| Кріопротектори        | ГЛ   | ОЕГ $n=5$ | 1,2-ПД | ДМСО | ДМАЦ | ДМФА |
|-----------------------|------|-----------|--------|------|------|------|
| $\text{IC}_{50}$ , мМ | 5,43 | 0,82      | 0,82   | 0,8  | 2,87 | 3,42 |

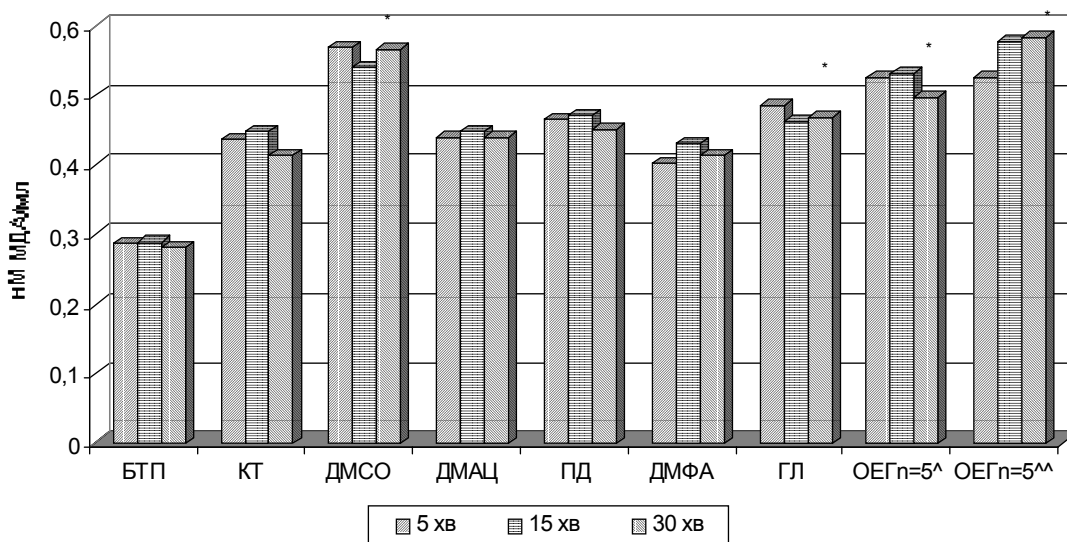


Рис. 1. Вміст ТБК-активних продуктів у системі "тромбоцити-плазма" залежно від часу експозиції з кріопротектором.

Примітка. \* – відмінності статистично достовірні порівняно з контролем,  $p < 0,05$ ;  
^ – концентрація 0,125 М; ^^ – концентрація 0,25 М.

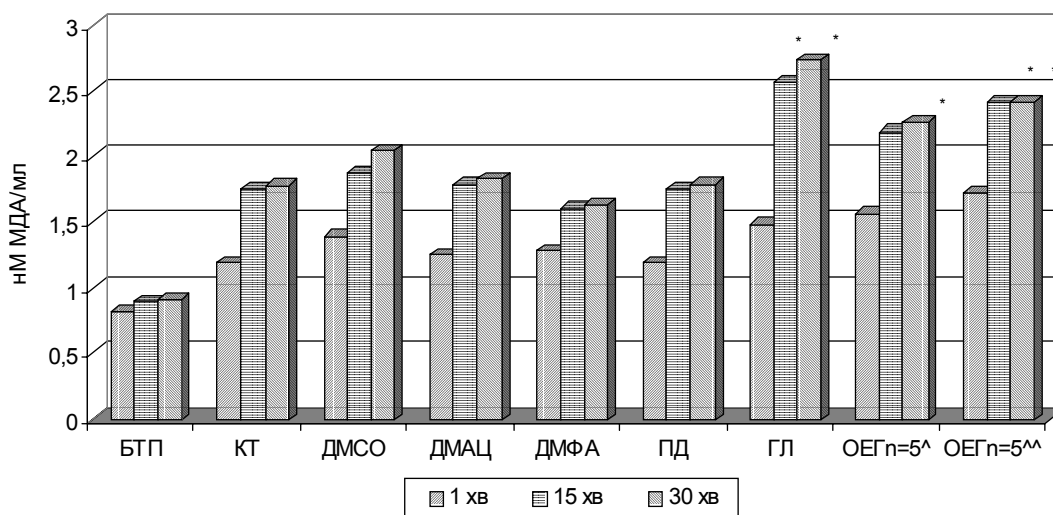


Рис. 2. Інтенсивність індукованого іонами заліза ПОЛ у системі "тромбоцити-плазма" за присутності кріопротекторів.

Примітка. \* – відмінності статистично достовірні порівняно з контролем,  $p < 0,05$ ;  
^ – концентрація 0,125 М; ^^ – концентрація 0,25 М.

лення гідроксильних радикалів та їх впливом на інтенсивність ПОЛ (індукованого та неіндукованого) у системі "тромбоцити-плазма".

Відмінності у динаміці накопичення МДА у системі за присутності різних кріопротекторів, ймовірно, обумовлені хімічною структурою останніх. Дане питання потребує окремого дослідження.

**ВИСНОВКИ.** 1. Усі досліджені кріопротектори мають здатність перехоплювати гідроксильні радикали у модельній системі їх генерації.

2. Введення ДМСО, гліцерину та ОЕГn=5 призводить як до підвищення вмісту ТБК-АП, так і до збільшення інтенсивності індукованого ПОЛ у системі "тромбоцити-плазма", тоді як 1,2-ПД, ДМАЦ, ДМФА суттєво не впливають на прооксидантно-антиоксидантний баланс останньої.

3. Відсутність кореляції між досліджуваними показниками у модельній системі та системі "тромбоцити-плазма" свідчить про те, що характер впливу кріопротекторів на інтенсивність ПОЛ у системі "тромбоцити-плазма" не визначається тільки їх здатністю до перехоплення гідроксильних радикалів.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Аграненко В.А., Компаниец А.М., Волкова Р.И. Выделение концентратов тромбоцитов из обогащенной тромбоцитами плазмы донорской крови // Гематология и трансфузиология. – 1992. – **37**, № 4. – С. 32.
2. Азовская С.А. Криоконсервирование тромбоцитов // Гематология и трансфузиология. – 1995. – **40**, № 1. – С. 22-24.
3. Горожанская Э.Г., Давыдова Т.В., Зубрихина Г.Н. и др. Антиоксидантная система тромбоцитов у больных раком яичников // Клин. лаб. диагн. – 2003. – № 10. – С. 41-43.
4. Лисовская И.Л., Аграненко В.А. Изменения индуцированного ионами железа перекисного окисления липидов мембран тромбоцитов при консервировании и криоконсервировании // Проблемы гематологии. – 1983. – **40**, № 1. – С. 24-27.
5. Лобань-Череда Г.А. Роль перекисного окисления липидов в регуляции агрегатного состояния крови: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Харьков, 1992. – 33 с.
6. Наук В.А. Структура и функция спермиев сельскохозяйственных животных при криоконсервировании. – Кишинев: Штиинца, 1991. – 199 с.
7. Онищенко Е.В., Зинченко А.В. Исследование влияния некоторых проникающих криопротекторов на микросомы методом хемилюминесценции // Проблемы криобиологии. – 2005. – **15**, № 1. – С. 50-55.
8. Asakawa J., Matsushita S. Coloring conditions of tiobarbituric acid test for deleting lipid hydroperoxides // Lipids. – 1980. – **15**, № 3. – P. 137-140.
9. Ashwood-Smith M.J. Current concepts concerning radioprotective and cryoprotective properties of dimethyl sulfoxide in cellular systems // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 1975. – **243**. – P. 246-256.
10. Halliwell B., Gutteridge T.M.C., Aruoma O.T. The deoxyribose method: a simple "test-tube" assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl-radicals // Anal. Biochem. – 1987 – **165**, № 1. – P. 215-219.
11. Richter E., Armitage W.J. Seleno-DL-methionine and the protection of human platelets against freezing injury // Cryobiology. – 1985. – **22**, № 1. – P. 10-17.

## ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИРАДИКАЛЬНЫХ СВОЙСТВ КРИОПРОТЕКТОРОВ И ИХ ВЛИЯНИЯ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ПОЛ В СИСТЕМЕ "ТРОМБОЦИТЫ–ПЛАЗМА"

**О.В. Кныш<sup>1</sup>, С.Е. Овсянников<sup>1</sup>, Ю.В. Никитченко<sup>2</sup>, А.М. Компаниец<sup>1</sup>**  
ИНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРИОБИОЛОГИИ И КРИОМЕДИЦИНЫ НАН УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ<sup>1</sup>  
ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. В.Н. КАРАЗИНА<sup>2</sup>

### Резюме

*Изучали антирадикальную активность ряда криопротекторов в модельной системе, их влияние на прооксидантно-антиоксидантное равновесие в системе "тромбоциты-плазма". Установлено, что способность к перехвату гидроксильных радикалов не определяет характер влияния криопротекторов на интенсивность ПОЛ.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** тромбоциты, криопротекторы, гидроксильный радикал, ПОЛ.

## INVESTIGATION OF ANTIRADICAL FEATURES OF CRYOPROTECTORS AND THEIR INFLUENCE ON THE INTENSITY OF LIPID PEROXIDATION IN "PLATELETS–PLASMA" SYSTEM

**O.V. Knysh<sup>1</sup>, S.Ye. Ovsyannikov<sup>1</sup>, Yu.V. Nikitchenko<sup>2</sup>, A.M. Kompaniets<sup>1</sup>**  
INSTITUTE FOR PROBLEMS OF CRYOBIOLOGY AND CRYOMEDICINE OF NAS OF UKRAINE, KHARKIV<sup>1</sup>  
KHARKIV NATIONAL UNIVERSITY BY V.N. KARAZIN<sup>2</sup>

### Summary

*The antiradical activities of a number of cryoprotectors in the model system and their influence on the oxidative-antioxidative balance in the "platelets-plasma" system has been studied. It has been proved, that the free radical scavenging activity does not determine the character of the influence of cryoprotectors on the lipid peroxidation intensity.*

**KEY WORDS:** platelets, cryoprotectors, hydroxyl-radical, lipid peroxidation.

**Адреса для листування:** А.М. Компанієць, Інститут проблем криобіології і криомедицини НАН України, вул.Переяславська, 23, Харків, 61015, Україна.

## ЗМІНИ АКТИВНОСТІ СИСТЕМ РЕГУЛЯЦІЇ АПЕТИТУ ПРИ ХРОНІЧНОМУ СОЦІАЛЬНОМУ СТРЕСІ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ МЕТАБОЛІЧНОМУ СИНДРОМІ

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

*Вивчено вміст лептину та адипонектину в плазмі крові, чутливість до інсуліну та рівень анандаміду в гіпоталамусі сирійських хом'ячків з експериментальним метаболічним синдромом та хронічним емоційним стресом. Показано, що як експериментальний метаболічний синдром, так і хронічний соціальний стрес супроводжуються зростанням маси тіла дослідних тварин, причому при стресі збільшенню маси передують її зменшення. При зростанні маси тіла за таких умов розвивається інсулінорезистентність. В обох моделях показана двофазна зміна вмісту гормону жирової тканини – лептину: зниження в ранні строки та підвищення в більш пізні. Оскільки зростання рівня лептину не супроводжується припиненням набирання маси, припускається розвиток за умов даних моделей лептинорезистентності. Як при експериментальному метаболічному синдромі, так і при хронічному соціальному стресі в гіпоталамусі спостерігається збільшення вмісту ендogenousного ліганду каннабіноїдних рецепторів – анандаміду, який бере участь у регуляції харчової поведінки як орексигенний фактор. Продовження гіперфагії при зростанні маси тіла за умов використаних моделей може бути пов'язане з розвитком лептинорезистентності та припиненням гальмування лептином деградації орексигенного ендоканнабіноїду анандаміду.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** метаболічний синдром, хронічний соціальний стрес, лептин, анандамід, хом'ячки.

ВСТУП. Досі точні механізми, що беруть участь у координації споживання енергії, вивчено недостатньо. Найважливішим регулятором харчової поведінки є гіпоталамус [3, 12]. Відомо, що між депо жиру в організмі й центральною нервовою системою існує сигнальний взаємозв'язок, завдяки якому кількість жирів, що мобілізуються за добу, пропорційна загальним запасам жиру в організмі [1, 5]. Серед факторів, що здійснюють такий зв'язок, – гормон пептидної природи лептин, що секретується білою жировою тканиною пропорційно до маси жиру та через лімбічну частину і стовбур мозку знижує потребу в їжі [2, 4, 10]. Проте встановлено, що в більшості випадків при ожирінні рівень лептину підвищений [10]. Тому на сьогодні, за аналогією з інсулінорезистентністю, сформульовано поняття "лептинорезистентність", що нерідко поєднується з інсулінорезистентністю.

Важливим в ефектах лептину є його вплив на систему ендоканнабіноїдів – важливих регуляторів харчової поведінки – в гіпоталамусі.

© А.Л. Загайко, Л.М. Вороніна, К.В. Стрельченко, 2006.

Ендоканнабіноїди відносять до ендogenousних ліпідних молекул, що діють на ті ж рецептори, які активуються активним компонентом маріхуани (cannabis). Найкраще вивчено анандамід і 2-арахідоноілгліцерол (2-АГ), шляхи синтезу яких установлені. Ендоканнабіноїди утворюються з фосфоліпідів-попередників, що містяться в мембранах клітин, "за вимогою". Система дуже швидко активується та інактивується [10, 11, 12]. У цілому ендоканнабіноїдна система бере участь у багатьох різних фізіологічних функціях, багато з яких стосуються систем відновлення після стресу і підтримки гомеостатичної рівноваги. Крім того, ендоканнабіноїдна система включається в нейропротекцію, регуляцію рухової активності та є засобом керування деякими фазами обробної пам'яті, а також модулює імунну і запальну відповіді. Вона впливає на роботу серцево-судинної системи й органів дихання, керуючи частотою серцебиття, кров'яним тиском і бронхіальними функціями. Крім того, ендоканнабіноїди активують важливі антипроліферативні механізми в пухлинних клітинах [12]. Однак дані щодо змін

вмісту ендоканнабіноїдів при екстремальних станах, отримані різними дослідниками, дуже суперечливі [10, 11, 12].

Метою даного дослідження були вивчення молекулярних механізмів порушень харчової поведінки, які призводять до розвитку ожиріння та метаболічного синдрому, і пошук шляхів корекції цих порушень.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** У роботі використовували сирійських хом'ячків різної статі віком 1 рік та вихідною масою 100-160 г. Дослідних тварин було поділено на 3 групи: 1-ша – інтактні, 2-га – тварини, яких впродовж 5 тижнів утримували на дієті, що містить 29 % жиру (переважно насичені ліпіди) [11] з додаванням фруктози, та тварини, в яких щоденно протягом 5 тижнів викликали соціальний стрес скупчення [4]. Хом'ячків брали в дослід через 5 тижнів з моменту початку експерименту. Тварин декапітували під хлоралозо-уретановим наркозом. Дослідження проводили відповідно до національних "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах" (Україна, 2001), які узгоджуються з положеннями "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1985). Індекс інсулінорезистентності (IR) розраховували за допомогою алгоритму HOMA [2]. Вміст лептину та адипонектину в плазмі крові визначали імунохімічно із застосуванням стандартних наборів "Quintikine M Kit" (R&D Systems Inc.). Вміст анандаміду в гіпоталамусі визначали методом рідкофазової хромато-масспектрометрії при атмосферному тиску та температурі

400 °C на колонках Phenomenex (5 мм, 150×4,5 мм) зі зворотною фазою; m/z=348 [7]. Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням критерію Манна-Уїтні.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Нами встановлено, що застосування висококалорійної дієти, як і хронічний стрес, супроводжується зростанням маси тіла дослідних тварин (рис. 1).

За умов висококалорійної дієти (рис. 1.I) тварини починали набирати масу вже через тиждень, впродовж наступних 4 тижнів вона збільшувалась і через 5 тижнів з початку експерименту істотно перевищувала значення цього показника на початок експерименту. При хронічному стресі (рис. 1.II) маса тіла спочатку знижувалась (очевидно, як гостра відповідь на стрес), її зростання у самців спостерігалось через 2 тижні, а у самиць через тиждень з початку експерименту. Останнє, вочевидь, пов'язане саме зі змінами харчової поведінки – зі збільшенням вживання їжі.

При висококалорійній дієті у сироватці крові тварин, незалежно від статі, спостерігались зміни вмісту одного з регуляторів харчової поведінки – лептину, які мали 2-фазний характер, та зниження вмісту адипонектину (табл. 1).

Нами встановлено чітку кореляцію між вмістом у сироватці крові лептину та зростанням маси тіла (коефіцієнт кореляції = 0,70 у самців та 0,86 у самиць), а вміст адипонектину та збільшення маси тіла корелювали тільки у самців (коефіцієнт кореляції = -0,8). Ми також показали у тварин за умов висококалорійної дієти наявність інсулінорезистентності та вира-

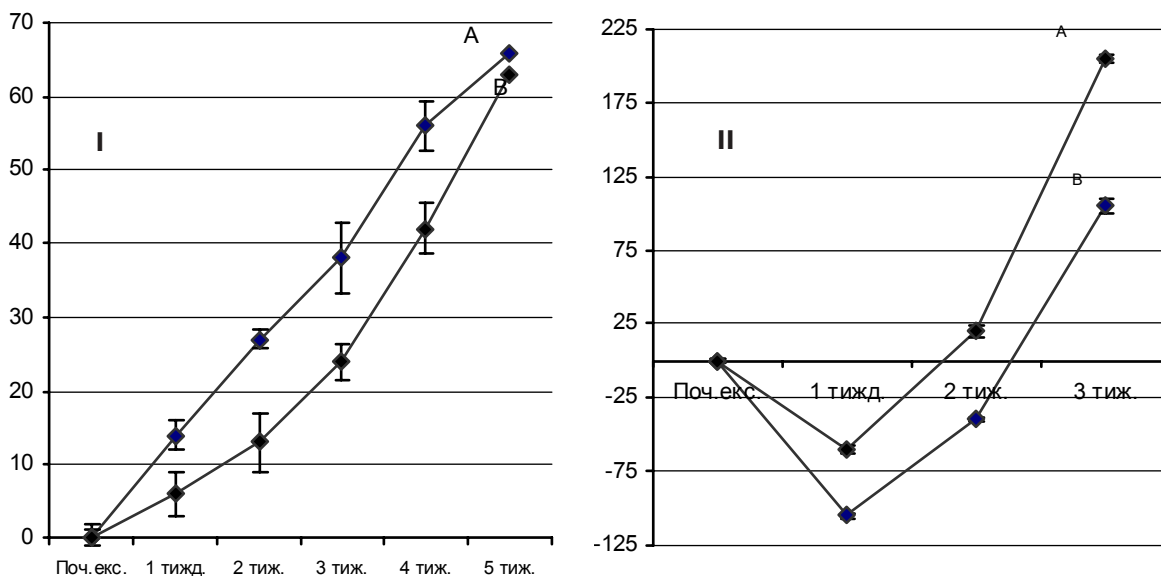


Рис. 1. Приріст маси тіла у сирійських хом'ячків самців (A) та самиць (B) при висококалорійній дієті (I) та хронічному стресі (II) ( $M \pm m$ ,  $n=6$ ).

Таблиця 1 – **Динаміка вмісту лептину та адипонектину в сироватці крові сирійських хом'ячків при висококалорійній дієті**

|             | Інтакт     | 3 дні       | 1 тижд.    | 2 тиж.     | 3 тиж.      | 4 тиж.      | 5 тиж.      |
|-------------|------------|-------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|
| Самці       |            |             |            |            |             |             |             |
| Лептин      | 25,40±2,29 | 12,20±1,28* | 9,60±0,92* | 7,80±0,86* | 17,20±1,06* | 32,40±1,06* | 38,60±0,92* |
| Адипонектин | 4,58±0,14  | 3,06±0,16*  | 2,56±0,16* | 2,12±0,11* | 1,70±0,07*  | 1,08±0,06*  | 0,92±0,06*  |
| Самиці      |            |             |            |            |             |             |             |
| Лептин      | 21,00±3,16 | 20,20±1,65  | 8,00±0,89* | 14,2±1,2*  | 30,60±2,16* | 41,20±2,41* | 41,60±3,23* |
| Адипонектин | 2,50±0,02  | 2,14±0,20   | 0,84±0,10* | 0,72±0,06* | 0,72±0,07*  | 0,72±0,07*  | 0,78±0,06*  |

Примітка. Тут і в наступній таблиці: \* – зміни вірогідні відносно інтакту.

Таблиця 2 – **Динаміка вмісту лептину та адипонектину в сироватці крові сирійських хом'ячків при хронічному стресі**

|             | Інтакт     | 3 дні       | 1 тижд.     | 2 тиж.      | 3 тиж.      | 4 тиж.      | 5 тиж.      |
|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Самці       |            |             |             |             |             |             |             |
| Лептин      | 23,50±2,09 | 12,33±0,76* | 6,00±0,58*  | 5,53±0,48*  | 11,50±0,62* | 29,40±4,83* | 35,60±2,30* |
| Адипонектин | 4,25±0,35  | 2,42±0,21*  | 0,95±0,08*  | 0,80±0,07*  | 0,60±0,04*  | –           | –           |
| Самиці      |            |             |             |             |             |             |             |
| Лептин      | 31,67±1,22 | 21,33±1,76* | 16,00±1,15* | 15,67±1,64* | 15,33±1,26* | 23,40±3,44  | 38,20±2,87* |
| Адипонектин | 2,38±0,17  | 2,03±0,16   | 1,58±0,10*  | 1,05±0,08*  | 0,77±0,06*  | –           | –           |

женої атерогенної дисліпідемії незалежно від статі, що свідчило про метаболічний синдром і підвищення ризику розвитку атеросклерозу [1, 6].

При цьому зростання маси тіла прямо корелювало з інсулінорезистентністю у тварин різної статі (коефіцієнт кореляції = 0,94 у самців та 0,97 у самиць), а також зі змінами показників метаболізму ліпідів у сироватці крові.

При хронічному стресі у сироватці крові спостерігалось зниження вмісту лептину та адипонектину незалежно від статі (табл. 2).

У цих тварин ми також встановили наявність характерних ознак метаболічного синдрому – інсулінорезистентності та атерогенної дисліпідемії (дані не наводяться).

При цьому встановлено чітку негативну кореляцію між вмістом у сироватці крові тварин адипонектину та інсулінорезистентністю (коефіцієнт кореляції = -0,79 у самців та -0,92 у самиць).

Отримані нами дані свідчать про наявність тісного зв'язку між утворенням у жировій тканині гуморальних факторів – лептину та адипонектину, зростанням маси тіла та формуванням окремих компонентів метаболічного синдрому. Це вказує на провідну роль порушення утворення та рецепції адипокінінів у виникненні ожиріння та метаболічного синдрому при висококалорійній дієті та хронічному стресі. Нами встановлено наявність статевих

відмінностей у змінах вмісту адипокінінів та їх ролі у формуванні метаболічного синдрому. Це, очевидно, пов'язано з різною метаболічною активністю жирової тканини у самців та самиць [9, 10].

Як ми вже вказували, вплив адипокінінів на формування харчової поведінки відбувається за участю ендоканнабіноїдної системи, однак зміни в її функціонуванні, які призводять до зростання апетиту та ожиріння, залишаються нез'ясованими. Розуміння взаємозв'язку між порушеннями синтезу та секреції адипокінінів і функціонуванням ендоканнабіноїдної системи та молекулярних механізмів цих порушень за умов дії на організм несприятливих факторів дасть змогу сформуванню стратегію корекції харчової поведінки людини з метою профілактики та лікування ожиріння і метаболічного синдрому.

Як відомо, лептин знижує рівень важливих оксигенних регуляторів – ендоканнабіноїдів (анандаміду і 2-арахідонілгліцеролу) в гіпоталамусі, що свідчить про участь ендоканнабіноїдної системи в зворотній регуляції апетиту лептином [7]. Останній ефект пов'язують з активацією під дією лептину ферментів, що здійснюють деградацію ендоканнабіноїдів, зокрема гідролази амідів жирних кислот. Показано, що лептин індукує даний фермент. Тому за зниження вмісту лептину в сироватці крові в перші терміни експериментального

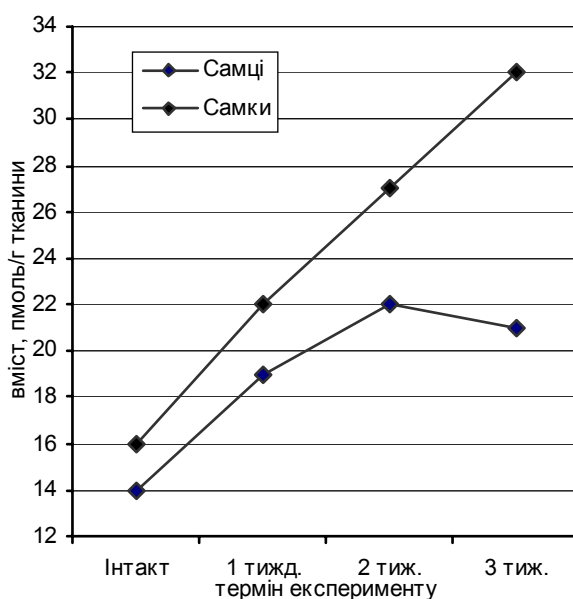


Рис. 2. Вміст анандаміду в гіпоталамусі сирійських хом'ячків при хронічному соціальному стресі.

метаболічного синдрому та хронічного стресу закономірно спостерігається підвищене вживання їжі, яке призводить до зростання маси тіла. Разом із тим, підвищення рівня лептину, що відбувається на більш пізніх етапах розвитку експериментального метаболічного синдрому та хронічного стресу, мало б спричинити зниження вмісту ендоканнабіноїдів в мозку й, отже, зменшення споживання їжі. Це, у свою чергу, призвело б до гальмування приросту маси тіла або навіть до її зменшення. Як видно з наших результатів, цього не відбувається, ймовірно, внаслідок розвитку резистентності до лептину. Для перевірки цього припущення ми визначили вміст головного ендоканнабіноїду центральної нервової системи – анандаміду – в гіпоталамусі дослідних тварин.

Нами показано, що хронічний стрес та експериментальний метаболічний синдром супроводжуються зростанням вмісту в гіпоталамусі анандаміду (рис. 2, 3). Саме ці зміни, ймовірно, лежать в основі порушення харчової поведінки при розвитку метаболічного синдрому та хронічного стресу, які супроводжуються гіперфагією та зростанням маси тіла, що можна розглядати, разом із дисліпідемією, котра розвивається за цих умов, як показник проатерогенності даних станів.

Таким чином, продовження гіперфагії при зростанні маси тіла за умов використаних моделей може бути пов'язане з розвитком лептинорезистентності та припиненням гальмування лептином деградації орексигенного ендоканнабіноїду анандаміду.

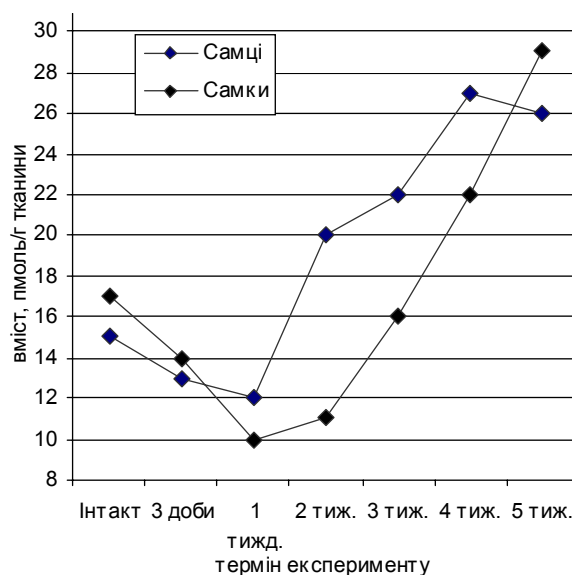


Рис. 3. Вміст анандаміду в гіпоталамусі сирійських хом'ячків при експериментальному метаболічному синдромі.

Проте конкретні механізми цих змін, їх взаємозв'язок та вплив терапевтичних факторів на досліджені показники залишаються нез'ясованими та потребують подальших досліджень.

**ВИСНОВКИ.** 1. Як експериментальний метаболічний синдром, так і хронічний соціальний стрес супроводжуються зростанням маси тіла дослідних тварин, причому при стресі підвищенню маси передують її зменшення.

2. Зростання маси тіла за таких умов супроводжується розвитком інсулінорезистентності.

3. В обох моделях показано двофазну зміну вмісту гормону жирової тканини – лептину: зниження в ранні строки та підвищення в більш пізні.

4. Оскільки зростання рівня лептину не супроводжується припиненням набирання маси, припускається розвиток за умов даних моделей лептинорезистентності.

5. Як при експериментальному метаболічному синдромі, так і при хронічному соціальному стресі в гіпоталамусі спостерігається зростання вмісту ендogenous лиганду каннабіноїдних рецепторів – анандаміду, який бере участь у регуляції харчової поведінки як орексигенний фактор.

6. Продовження гіперфагії при зростанні маси тіла за умов використаних моделей може бути пов'язане з розвитком лептинорезистентності та припиненням гальмування лептином деградації орексигенного ендоканнабіноїду анандаміду.



## ЛІТЕРАТУРА

1. Алмазов В.А., Благосклонная Я.В., Шляхто Е.В., Красильникова Е.И. Метаболический сердечно-сосудистый синдром. – С.Пб.: Изд-во СПбГМУ, 1999. – 208 с.
2. Алмазов В.А., Благосклонная Я.В., Шляхто Е.В. и др. Синдром инсулинорезистентности // Артериальная гипертензия. – 1997. – **3**, № 1. – С. 7-17.
3. Мельниченко Г.А. Ожирение в практике эндокринолога // РМЖ. – 2001. – **2**, № 9. – С. 82-87.
4. Семагин В.Н., Зухарь А.В., Куликов М.А. Тип нервной системы, стрессустойчивость и репродуктивная функция. – М.: Наука, 1988. – 135 с.
5. Kahn B.B., Flier J.S. Obesity and insulin resistance // J. Clin. Invest. – 2000. – **106**, № 4. – P. 473-481.
6. Kannel W.B., Cuppels L.A., Ramaswami R. et al. Regional obesity and risk of cardiovascular disease; the Framingham study // J. Clin. Epidemiol. – 1991. – **44**, № 2. – P. 183-190.
7. Maccarone M., Frideri E., Bisogno T. et al. Up-regulation of the endocannabinoid system in the uterus of leptin knockout (ob/ob) mice and implication for fertility // Molecular Human Reproduction. – 2004. – **11**, № 1. – P. 21-28.
8. Mohamed-Ali V., Pinkney J.H., Coppack S.W. Adipose tissue as an endocrine and I paracrine organ // Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. – 1998. – **22**. – P. 1145-1158.
9. Pajvani U.B., Scherer P.E. Adiponectin: systemic contributor to insulin sensitivity // Curr. Diab. Rep. – 2003. – **3**. – P. 207-213.
10. Takahashi M., Funahashi T., Shimomura I. et al. Plasma leptin levels and body fat distribution // Horm. Metab. Res. – 1996. – **28**. – P. 751-752.
11. Wang P.R., Guo Q., Ippolito M. et al. High fat fed hamster, a unique animal model for treatment of diabetic dyslipidemia with peroxisome proliferator activated receptor alpha selective agonists // Eur. J. Pharmacol. – 2001. – **427**. – P. 285-293.
12. Wang L., Liu J., Harvey-White J. et al. Endocannabinoid signaling via cannabinoid receptor1 is involved in ethanol preference and its agedependent decline in mice // PNAS. – 2003. – **100**, № 3. – P. 1393-1398.

## ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ СИСТЕМ РЕГУЛЯЦИИ АППЕТИТА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ СОЦИАЛЬНОМ СТРЕССЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ

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

### Резюме

*Изучено содержание лептина и адипонектина в плазме крови, чувствительность к инсулину и уровень анандамида в гипоталамусе сирийских хомячков с экспериментальным метаболическим синдромом и хроническим эмоциональным стрессом. Показано, что как экспериментальный метаболический синдром, так и хронический социальный стресс сопровождаются возрастанием массы тела исследованных животных, причем при стрессе увеличению массы предшествует её уменьшение. При возрастании массы тела в таких условиях развивается инсулинорезистентность. В обеих моделях показано двуфазное изменение содержания гормона жировой ткани – лептина: снижение в ранние сроки и повышение в более поздние. Поскольку возрастание уровня лептина не сопровождается прекращением набора массы, допускается развитие в условиях данных моделей лептинорезистентности. Как при экспериментальном метаболическом синдроме, так и при хроническом социальном стрессе в гипоталамусе наблюдается увеличение содержания эндогенного лиганда каннабиноидных рецепторов – анандамида, который принимает участие в регуляции пищевого поведения как орексигенный фактор. Продолжение гиперфагии при возрастании массы тела в условиях использованных моделей может быть связано с развитием лептинорезистентности и прекращением торможения лептином деградации орексигенного эндоканнабиноида анандамида.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** метаболический синдром, хронический социальный стресс, лептин, анандамид, хомячки.

# CHANGES OF APPETITE REGULATION SYSTEMS ACTIVITY UNDER CHRONIC SOCIAL STRESS AND EXPERIMENTAL METABOLIC SYNDROME

A.L. Zagayko, L.M. Voronina, K.V. Strelchenko  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

## Summary

*Leptin and adiponectin content in blood serum, sensitivity to insulin and anandamide level in hypothalamus of syrian hamsters with an experimental metabolic syndrome and chronic emotional stress was investigated. It has been shown, that both experimental metabolic syndrome and chronic social stress are accompanied by raising of explored animal body mass, and under the stress the increase of weight is preceded by its decrease. The increase of body mass under such circumstances is accompanied by insulin-resistance development. In both models was shown 2-phase change in the adipose tissue hormone leptin content: lowering in early terms, and its rising in later terms. As the increasing of a leptin level is not accompanied by the ceasing of mass increase, the development of leptin-resistance under conditions of the given models is supposed. Both at an experimental metabolic syndrome and at chronic social stress in hypothalamus is observed the increase of the content of endogenous cannabinoid receptors ligand anandamide which participates in a regulation of feeding behavior as orexigenic factor. Thus, the hyperphagia continuation at body mass increasing under conditions of used models can be linked to leptin-resistance development and ceasing of inhibition of orexigenic endocannabinoid anandamide degradation by leptin.*

KEY WORDS: **metabolic syndrome, chronic social stress, leptin, anandamide, hamsters.**

Адреса для листування: А.Л. Загайко, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.

## ВИВЧЕННЯ ЕЛЕМЕНТНОГО СКЛАДУ РОСЛИН РОДУ ТИРЛИЧ

А.Р. Грицик

ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

У статті представлено результати дослідження елементного складу рослин роду тирлич, які пропонуються як лікарські засоби.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: макро- та мікроелементи, рослинна сировина, тирлич.

**ВСТУП.** Мінеральні речовини необхідні для нормального функціонування органів та тканин живих організмів. Макро- та мікроелементи беруть участь у діяльності залоз внутрішньої секреції, впливають на обмін речовин, діяльність серцево-судинної, нервової, дихальної і кровотворної систем. Недостатність тих чи інших мінеральних речовин призводить до різноманітних захворювань.

Важливим джерелом мінеральних сполук є лікарські рослини. У рослинах макро- і мікроелементи накопичуються у вигляді комплексів у найсприятливішому співвідношенні основних компонентів у найбільш доступній і засвоєній для організму людини формі [3]. Терапевтична дія макро- та мікроелементів може посилювати активність біологічно активних речовин рослинної сировини.

Тому на сьогодні актуальними є пошук рослин та розробка на їх основі нових лікарських засобів, які б містили комплекс основних макро- і мікроелементів. Разом із тим, в деяких місцях зростання рослини можуть накопичувати шкідливі або токсичні для організму речовини, що необхідно враховувати при заготівлі та вирощуванні рослинної сировини [7].

Метою нашого дослідження було вивчення макро- і мікроелементного складу рослин роду тирлич залежно від місця зростання рослини.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Для дослідження використовували надземні й підземні органи тирличу (т.) жовтого, т. крапчастого, т. весняного, т. карпатського, т. ваточниковидного та т. звичайного, які заготовляли в різних районах Івано-Франківської, Львівської та Закарпатської областей протягом 2002-2005 рр.

Елементний склад сировини видів роду тирлич вивчали на базі акредитованої науково-

© А.Р. Грицик, 2006.

дослідної проблемної біохімічної лабораторії Івано-Франківського державного медичного університету при консультативній допомозі завідувача лабораторії проф. А.О. Клименка.

Для вивчення елементного складу досліджуваних об'єктів нами використано метод атомно-абсорбційної спектроскопії [1].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати спектрального визначення вмісту металів-мікроелементів значною мірою залежать від способу мінералізації об'єктів (табл. 1). Тому золу з відібраних зразків сировини нами підготовлено згідно з методикою ДФ СРСР XI вид. [1]. Озолення проводили у муфельній печі при температурі 450 °С, щоб уникнути часткових втрат легколетких елементів (Li, Cd) [4].

Одержану золу досліджували на наявність металів. Визначення елементів проводили в атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115ПК з атомізацією в повітряно-ацетиленовому полум'ї. Аналітичні параметри вибирали, спираючись на літературні дані та експериментальні уточнення [1, 2]. При цьому тиск складав 0,4 кг/см<sup>2</sup> і 20 мм вод. ст. відповідно; температура полум'я – 2250 °С. Калібрувальні графіки в інтервалі вимірюваних концентрацій елементів будували за допомогою стандартних проб розчинів солей металів (ICORM-23-27) [5, 6]. Для розчинення міді використовували азотну кислоту особливої чистоти, а при аналізі інших елементів – реактиви кваліфікації х.ч. та двічі очищену воду. Паралельно при аналізі проб виконували контрольний дослід. Відносне стандартне відхилення (для п'яти паралельних вимірів) не перевищувало 30 % при визначенні числових значень концентрацій елементів.

**ВИСНОВКИ.** Одержані результати в досліджуваних органах представників роду

Таблиця 1 – Вміст макро- і мікроелементів у сировині видів роду тирлич

| Рослина  | Місце і рік заготівлі сировини  | Сировина          | Фаза вегетації      | Вміст елементів, мг/кг сировини |       |       |       |      |      |
|--|---|-------------------|---------------------|---------------------------------|-------|-------|-------|------|------|
|  |   |                   |                     | Fe                              | Mg    | Zn    | Mn    | Co   | Cu   |
| Тирлич крпачастий                                    | Закарпатська обл., Рахівський р-н, г. Менчул, 2002 р.                       | Корені            | Початок вегетації   | 37,68                           | 2,18  | 3,41  | 4,75  | 0,30 | 0,21 |
|  |   | Листки            | Масова вегетація    | 20,84                           | 3,15  | 7,25  | 12,78 | 0,45 | 1,04 |
|  | Івано-Франківська обл., Надвірнянський р-н, пол. Пожижевська, 2002 р.       | Корені            | Плодоношення        | 9,56                            | 3,23  | 1,88  | 9,78  | 0,29 | 0,73 |
|  |   | Листки            |                     | 20,95                           | 4,00  | 10,37 | 15,91 | 0,51 | 1,15 |
|  | Івано-Франківська обл., Надвірнянський р-н, Черногірський хребет, 2002 р.   | Корені            | Плодоношення        | 14,67                           | 3,21  | 13,81 | 23,10 | 0,31 | 1,16 |
|  |   | Листки            |                     | 15,76                           | 4,12  | 11,96 | 27,52 | 0,61 | 1,19 |
|  | Івано-Франківська обл., Надвірнянський р-н, окол. оз. Несамовите, 2002 р.   | Корені            | Плодоношення        | 21,56                           | 4,21  | 2,60  | 29,69 | 0,30 | 1,33 |
|  |   | Листки            |                     | 27,75                           | 4,82  | 5,92  | 31,12 | 0,57 | 1,57 |
|  |   | Корені            | Плодоношення        | 23,77                           | 4,00  | 3,00  | 12,62 | 0,31 | 2,13 |
|  |   | Листки            |                     | 28,15                           | 4,22  | 6,51  | 21,05 | 0,59 | 2,18 |
| Закарпатська обл., Рахівський р-н, г. Шешул, 2002 р. | Корені  | Початок вегетації | 14,15               | 2,15                            | 3,40  | 9,65  | 0,29  | 0,36 |      |
|  | Листки  | Масова вегетація  | 30,35               | 3,22                            | 6,71  | 18,34 | 0,60  | 2,19 |      |
| Тирлич жовтий  | Закарпатська обл., Рахівський р-н, г. Шешул, 2002 р.                        | Корені            | Початок вегетації   | 19,96                           | 3,00  | 3,54  | 4,06  | 0,29 | 0,27 |
|  |   | Листки            | Масова вегетація    | 29,57                           | 3,15  | 10,39 | 17,20 | 0,57 | 1,18 |
| Тирлич карпатський                                   | Івано-Франківська обл., Надвірнянський р-н, окол. с. Яблуниця, 2002 р.      | Трава             | Цвітіння            | 7,87                            | 4,12  | 6,81  | 11,23 | 0,58 | 1,61 |
|  | Івано-Франківська обл., Верховинський р-н, г. Писаний камінь, 2003 р.       | Трава             | Цвітіння            | 27,18                           | 3,122 | 8,17  | 10,93 | 0,57 | 2,78 |
|  |   | Корені            | Початок вегетації   | 16,25                           | 2,13  | 3,12  | 9,01  | 0,28 | 1,32 |
|  | Івано-Франківська обл., окол. м. Яремче, 2005 р.                            | Трава             | Цвітіння            | 28,93                           | 3,55  | 7,53  | 11,78 | 0,51 | 2,33 |
| Корені   |   | 17,00             |                     | 2,18                            | 4,00  | 9,08  | 0,29  | 1,78 |      |
| Тирлич весняний                                      | Івано-Франківська обл., Надвірнянський р-н, пол. Пожижевська, 2002 р.       | Корені            | Початок вегетації   | 9,86                            | 1,47  | 6,20  | 27,58 | 0,31 | 2,21 |
|  |   | Трава             | Цвітіння            | 34,43                           | 2,47  | 8,37  | 26,43 | 0,51 | 3,39 |
| Тирлич звичайний                                     | Івано-Франківська обл., окол. м. Надвірної, 2002 р.                         | Трава             | Цвітіння            | 30,12                           | 3,92  | 9,00  | 17,12 | 0,60 | 3,12 |
|  |   | Корені            | Стигле плодоношення | 19,00                           | 3,18  | 5,10  | 9,42  | 0,34 | 2,73 |
| Тирлич ваточни-ковидний                              | Львівська обл., Сколівський район, окол. с. Гребенів, 2004 р.               | Трава             | Цвітіння            | 31,01                           | 2,90  | 17,15 | 46,12 | 0,63 | 3,22 |
|  |   | Корені            | Початок вегетації   | 19,12                           | 2,00  | 8,00  | 35,00 | 0,31 | 2,50 |
|  | Івано-Франківська обл., Надвірнянський район, окол. оз. Несамовите, 2004 р. | Трава             | Цвітіння            | 32,00                           | 3,01  | 16,12 | 45,00 | 0,64 | 3,00 |
|  |   | Корені            | Початок вегетації   | 17,00                           | 2,11  | 9,02  | 24,70 | 0,32 | 2,51 |

тирлич вказують на те, що кількість і якісний склад макро- та мікроелементів залежать від елементного обміну даної рослини, умов зростання, елементного складу ґрунту та фази

вегетації рослини, що, у свою чергу, можна використати при розробці нових лікарських препаратів рослинного походження, які б мали заздалегідь бажані фармакологічні ефекти.

#### ЛІТЕРАТУРА

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

2. Журавльов М.С., Абу Захер Кхалед, Ковальов С.В. Вивчення біологічно активних речовин представників роду щавель // Вісник фармації. – 2000. – № 4 (24). – С. 14-17.

3. Козярін І.П. Цинк і здоров'я // Фітотерапія. Часопис. – 2002. – № 1-2. – С. 51-52.

4. Лабінський А.Й., Гаєвський В.Г., Сковій П.Г. Кількісне визначення мікроелементів у тканинах та

біологічних рідинах методом прямого емісійного спектрального аналізу // Фармац. журн. – 1984. – № 3. – С. 42-44.

5. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – М.: Медицина, 2001. – Т. 1. – 624 с.; Т. 2. – 570 с.

6. Медико-биологические требования и санитарные нормы качества продовольственного сырья и пищевых продуктов. – Новосибирск: Наук. сиб. отд., 1991. – 431 с.

7. Попов А.І. Вміст елементів у кореневищах зміїовика // Фармац. журн. – 1993. – № 2. – С. 59-62.

## ИЗУЧЕНИЕ ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА РАСТЕНИЙ РОДА ГОРЕЧАВКА

**А.Р. Грицик**

*ИВАНО-ФРАНКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ*

#### Резюме

*В статье представлены результаты исследования элементного состава растений рода горечавка, которые предложены как лекарственные средства.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** макро- и микроэлементы, растительное сырьё, горечавка.

## STUDY OF ELEMENT COMPOSITION OF GENUS GENTIANA PLANTS

**A.R. Hrytsyk**

*IVANO-FRANKIVSK STATE MEDICAL UNIVERSITY*

#### Summary

*The article demonstrates the results of the study of element composition of the genus Gentiana plants, which are suggested as medical means.*

**KEY WORDS:** macro- and microelements, raw material, Gentiana.

**Адреса для листування:** А.Р. Грицик, Івано-Франківський державний медичний університет, кафедра фармації, вул. Галицька, 2, Івано-Франківськ, 76000, Україна.

## РЕГУЛЯЦІЯ ВМІСТУ УБІХІНОНУ Й АКТИВНОСТІ УБІХІНОНЗАЛЕЖНИХ ОКСИДОРЕДУКТАЗНИХ СИСТЕМ ЛАНЦЮГА ТРАНСПОРТУ ЕЛЕКТРОНІВ ЗА УМОВ ВІТАМІН Е-ГІПОВІТАМІНОЗУ

О.Б. Кучменко, Д.М. Петухов, Г.В. Донченко  
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ

*У роботі показано можливість регуляції вмісту убіхінону в печінці та покращання ефективності функціонування убіхінонзалежних ферментних систем ланцюга транспорту електронів мітохондрій у тварин з вітамін Е-гіповітамінозом шляхом введення попередників і медіаторів його біосинтезу.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** убіхінон, попередники і медіатори біосинтезу убіхінону, убіхінонзалежні ферментні системи.

ВСТУП. Убіхінони (CoQ) є 2,3-диметокси-5-метил-1-4-бензохінонами з поліізопреноїдним бічним ланцюгом у 6-му положенні. Для вищих рослин та вищих тварин (зокрема, ссавців) характерним є CoQ<sub>10</sub>. Реакції CoQ з ферментними системами є основними лімітуючими за часом у ланцюзі транспорту електронів (ЛТЕ), критичною для нормального функціонування мітохондрій та клітини в цілому є наявність у внутрішній мітохондріальній мембрані достатнього функціонально активного пулу CoQ [1, 3]. Внутрішньоклітинний пул CoQ поповнюється як за рахунок ендогенного синтезу, так і за рахунок надходження ззовні. Показано, що біосинтез хінонового кільця відбувається через утворення пара-оксибензойної кислоти (ПОБК) [6]. Було продемонстровано, що вітамін Е значно активізує біосинтез CoQ в тканинах дослідних тварин. Показано, що за різних станів (стресові ситуації, похилий вік, різноманітні хвороби і т.ін.) біосинтез CoQ в організмі людини та тварин порушується, тому існує потреба пошуку шляхів підвищення забезпеченості організму людини CoQ [4, 7]. Отже, метою даної роботи було дослідження вмісту CoQ та функціонування CoQ-залежних ферментних систем ЛТЕ мітохондрій клітин печінки тварин з Е-гіповітамінозом за умов введення попередників і медіаторів біосинтезу CoQ.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Матеріалом для дослідження слугували білі лабораторні щурисамці масою 150-190 г. Гіповітаміноз Е моделювали шляхом утримування тварин на дієті © О.Б. Кучменко, Д.М. Петухов, Г.В. Донченко, 2006.

(A40), дефіцитній на вітамін Е, протягом 3,5 місяців (Е.Е. Edwin, А.Т. Diplock et al., 1961).

Вивчено такі біологічно активні сполуки (БАС), які можуть бути потенційними активаторами ендогенного синтезу CoQ та впливати на його функціонування в ЛТЕ мітохондрій: ПОБК, метіонін, фолієву, пантотенову й аскорбінову кислоти. Дію всіх цих сполук (БАС) та їх композицій перевіряли на фоні введення вітаміну Е ( $\alpha$ -токоферилацетату фармакопейного) – відомого регулятора біосинтезу CoQ [1].

Тварин було розділено на шість груп:

- контроль (тварини на Е-гіповітамінозній дієті, які отримували вітамін Е у фізіологічній дозі);
- тварини з Е-гіповітамінозом;
- тварини, які отримували олійний розчин вітаміну Е разом із водними розчинами ПОБК і метіоніну (група ЕПМ);
- тварини, які отримували олійний розчин вітаміну Е разом із водними розчинами ПОБК, метіоніну і фолієвої кислоти (група ЕПМФ);
- тварини, які отримували олійний розчин вітаміну Е разом із водними розчинами ПОБК, метіоніну, фолієвої і пантотенової кислот (група ЕПМФпк);
- тварини, які отримували олійний розчин вітаміну Е разом із водними розчинами ПОБК, метіоніну, фолієвої, пантотенової та аскорбінової кислот (група ЕПМФпкА).

Вказані композиції вводили кожної доби перорально одноразово за допомогою зонда протягом 10 днів. Обиралися такі дози препаратів: вітамін Е – 10 мг/кг живої маси, ПОБК – 50 мг/кг, метіонін – 150 мг/кг, фолієва кисло-

та – 70 мг/кг, пантотенова кислота – 10 мг/кг, аскорбінова кислота – 10 мг/кг.

Через 18 год після останнього введення щурів забивали шляхом декапітації з дотриманням вимог міжнародних конвенцій щодо гуманного поводження із тваринами в умовах лабораторних досліджень. Забирали тканину печінки (одну й ту саму частку), промивали в охолоджену розчин буфера (0,25 М розчин сахарози на 0,05 М трис(гідроксиметил)амінометані (рН=7,36) з додаванням 0,001 М етил-едіамінтетраацетату (ЕДТА)). Мітохондрії виділяли методом диференційного ультрацентрифугування [9].

Вміст СоQ та токоферолу визначали за методом [2]. Вміст білка – за методом Лоурі [5]. Активність сукцинат-СоQ-редуктази (SQR) та NADH-СоQ-редуктази (HQR) – за методом Зіглера [8] та Тарасової [10] відповідно. Активність обох ферментативних систем визначали як без додавання, так і після внесення в систему СоQ; перша позначена як  $A_1$  – активність СQR або HQR в пробах, друга як  $A_2$  – активність тієї ж ферментативної системи після додавання до реакційної суміші  $Q_1$ . Статистичну обробку результатів досліджень проводили методами варіаційної статистики. Достовірність різниці двох середніх величин оцінювали за критерієм Стьюдента (t).

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати визначення вмісту СоQ і вітаміну Е в гомоге-

натах печінки дослідних тварин наведено в таблиці 1.

Показано, що введення тваринам з Е-гіповітамінозом розчину вітаміну Е разом з іншими БАС, що вивчаються, призводило до зростання вмісту СоQ і вітаміну Е в гомогенатах печінки. При цьому вміст СоQ достовірно збільшувався у всіх дослідних групах порівняно з контрольними групами, а вміст вітаміну Е – у щурів, які отримували композиції ЕПМФ, ЕПМФПк і ЕПМФПкА. Вивчення активності убіхінонзалежних ферментних систем (табл. 2) показало, що HQR-активність достовірно підвищувалась у всіх дослідних групах порівняно з групою тварин з Е-гіповітамінозом, хоча і не досягала контрольних величин. Найбільшу SQR-активність спостерігали в мітохондріях печінки щурів, які отримували комплекси ЕПМФПк і ЕПМФПкА. Очевидно, ці композиції впливали як на біосинтез СоQ, так і на функціональний стан мітохондріальних мембран, у складі яких функціонували дані ферментні комплекси і сам СоQ.

**ВИСНОВОК.** Одержані експериментальні результати свідчать про ефективність композицій попередників та медіаторів біосинтезу убіхінону, зокрема комплексів ЕПМ, ЕПМФПк, ЕПМФПкА, в підвищенні його вмісту в печінці дослідних тварин та у зростанні його функціональної активності як транспортера окисно-відновних еквівалентів у складі ланцюга транспорту електронів мітохондрій.

Таблиця 1 – **Вміст СоQ і вітаміну Е в гомогенатах печінки тварин з Е-гіповітамінозом ( $M \pm m$ , n=6)**

| Групи           | СоQ, мкг/г білка | Вітамін Е, мкг/г білка |
|-----------------|------------------|------------------------|
| Контроль        | 95,28±11,53      | 175,04±11,63           |
| Е-гіповітаміноз | 73,28*±9,56      | 69,30*±6,56            |
| ЕПМ             | 188,49*±10,67    | 243,63*±42,98          |
| ЕПМФ            | 183,71*±18,89    | 383,48*±24,64          |
| ЕПМФПк          | 169,23*±20,27    | 362,82*±11,45          |
| ЕПМФПкА         | 177,14*±19,96    | 401,42*±27,71          |

Примітка. \* – різниця достовірна порівняно з контролем ( $p < 0,05$ ), # – різниця достовірна порівняно з Е-гіповітамінозом ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 2 – **Активність ферментів ланцюга транспорту електронів SQR та HQR у мітохондріях печінки тварин з Е-гіповітамінозом ( $M \pm m$ , n=6)**

| Групи           | Показники  |               |                                      |                   |
|-----------------|--|---------------|--------------------------------------|-------------------|
|                 | HQR-активність, мкМ окисненого сукцинату/хв/мг білка |               | SQR-активність, мкМ NADH/хв/мг білка |                   |
|                 | $A_1$  | $A_2$         | $A_1$                                | $A_2$             |
| Контроль        | 214,41±23,36   | 430,03±28,00  | 13597,52±1943,85                     | 20072,70±1488,94  |
| Е-гіповітаміноз | 63,77*±19,60   | 258,14*±42,71 | 2230,69*±327,81                      | 7108,92*±1124,81  |
| ЕПМ             | 152,53*±14,64  | 436,15*±20,03 | 9607,57*±683,30                      | 14873,12*±568,16  |
| ЕПМФ            | 152,32*±5,63   | 309,04*±22,58 | 11514,65*±742,15                     | 15247,65*±288,01  |
| ЕПМФПк          | 138,39*±9,04   | 359,97*±33,69 | 14712,22*±709,12                     | 17707,14*±969,85  |
| ЕПМФПкА         | 156,31*±17,05  | 266,20*±29,63 | 13374,91*±1279,50                    | 15747,72*±1080,62 |

Примітка. \* – різниця достовірна порівняно з контролем ( $p < 0,05$ ), # – різниця достовірна порівняно з Е-гіповітамінозом ( $p < 0,05$ ).

## ЛІТЕРАТУРА

1. Донченко Г.В. Биохимия убикинона (Q). – К.: Наукова думка, 1980. – 240 с.
2. Донченко Г.В., Коваленко В.Н., Забарная Е.Н. и др. Действие производных  $\alpha$ -токоферола на содержание природных хинонов в тканях витамин Е-недостаточных крыс // Биохимия. – 1979. – **44**, № 5. – С. 923-930.
3. Crane F.L. Biochemical functions of coenzyme Q<sub>10</sub> // Journal of the American College of Nutrition. – 2001. – **20**, № 6. – P. 591-598.
4. Eaton S., Skinner R., Hale J.P. et al. Plasma coenzyme Q(10) in children and adolescents undergoing doxorubicin therapy // Clinica chimica acta; International Journal of Clinical Chemistry. – 2000. – **302**, № 1-2. – P. 1-9.
5. Lowry O.N., Rosebrough N.J., Farr A.L. et al. Protein measurement with the folin phenol reagent // Journal of Biological Chemistry. – 1951. – **193**, № 1. – P. 265-275.
6. Rudney H., Raman T.S. Biosynthesis of ubiquinones and vitamin K in microorganisms // Vitamins and Hormones. – 1966. – **24**. – P. 531-549.
7. Thomas S.R., Leichtweis S.B., Pettersson K. et al. Dietary cosupplementation with vitamin E and coenzyme Q(10) inhibits atherosclerosis in apolipoprotein E gene knockout mice // Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. – 2001. – **21**, № 4. – P. 585-593.
8. Ziegler D., Doeg K.A. Preparation and properties of succinate dehydrogenase-coenzyme Q reductase (complex II): Methods in Enzymology. – New York, 1967. – **10**. – P. 231-235.
9. Schneider V.C. Intracellular distribution of enzymes. III. The oxidation of octanoic acid by rat liver fraction // J. Biol. Chem. – 1948. – **176**, № 2. – P. 259-262.
10. Тарасова Н.В., Иванова Г.И., Гололобов А.Д. // Микробиология. – 1976. – **45**, № 3. – С. 400-405.

## РЕГУЛЯЦИЯ СОДЕРЖАНИЯ УБИКИНОНА И АКТИВНОСТИ УБИКИНОНЗАВИСИМЫХ ОКСИДОРЕДУКТАЗНЫХ СИСТЕМ ЦЕПИ ТРАНСПОРТА ЭЛЕКТРОНОВ ПРИ ВИТАМИН Е-ГИПОВИТАМИНОЗЕ

**Е.Б. Кучменко, Д.Н. Петухов, Г.В. Донченко**  
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ ИМ. А.В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАИНЫ, КИЕВ

### Резюме

*В работе показана возможность регуляции содержания убикинона в печени и улучшения эффективности функционирования убикинонзависимых ферментных систем цепи транспорта электронов митохондрией у животных с витамин Е-гиповитаминозом путем введения предшественников и медиаторов его биосинтеза.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** убикинон, предшественники и медиаторы биосинтеза убикинона, убикинонзависимые ферментные системы.

## REGULATION OF UBIQUINONE CONTENT AND ACTIVITY OF UBIQUINONE-DEPENDENT OXIDE-REDUCTASE SYSTEMS OF ELECTRON TRANSPORT CHAIN UNDER VITAMIN E-HYPOVITAMINOSIS

**O.B. Kuchmenko, D.M. Petukhov, G.V. Donchenko**  
INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY BY O.V. PALLADIN OF NAS OF UKRAINE, KYIV

### Summary

*The possibilities to regulate the ubiquinone content in liver and to improve the effectiveness of functioning of ubiquinone-dependent enzyme systems of mitochondria electron transport chain at animals with vitamin E-hypovitaminosis under the effect of precursors and mediators of its biosynthesis were demonstrated in this article.*

**KEY WORDS:** ubiquinone, precursors and mediators of ubiquinone biosynthesis, ubiquinone-dependent enzyme systems.

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



## ПАРАЛЕЛІЗМ АКТИВАЦІЇ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ І ПРОТЕОЛІЗУ В ТКАНИНАХ ПРИ ГОСТРОМУ ЕМОЦІЙНОМУ СТРЕСІ

Л.М. Тарасенко, К.С. Непорада, В.В. Корольова  
ВИЩИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД "УКРАЇНСЬКА  
МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ"

*На моделі гострого емоційного стресу в щурів обґрунтовано положення про паралелізм активації вільнорадикальних і протеолітичних процесів у крові й тканинах пародонта. За цих умов підвищується проникність гематофтальмічного бар'єру, ймовірно, внаслідок збільшення вмісту перекису водню у внутрішньоочній рідині.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** гострий стрес, вільнорадикальні процеси, протеоліз, пародонт, орган зору.

**ВСТУП.** Природа стресорних ушкоджень тканин досить складна, але одним із універсальних механізмів розвитку патологічних змін структури і функції органів є активація вільнорадикального окиснення (ВРО) [5]. Даний механізм складає основу ушкодження внутрішньоклітинних мембран, зокрема лізосом [7, 8]. Підвищена секреція катехоламінів і глюкокортикоїдів сприяє лабілізації лізосомальних мембран і активації гідролітичних ферментів [7]. Питання про зв'язок стресорної активації вільнорадикального окиснення і протеолізу недостатньо вивчено.

Мета даного дослідження – проаналізувати зв'язок підсилення ВРО і протеолітичних процесів у крові, тканинах пародонта, внутрішньоочній рідині та тканинах органа зору при гострому емоційному стресі.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Експерименти виконано на 48 статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-230 г та 22 кролях породи шиншила масою 1,8-3,5 кг. Емоційний стрес у щурів відтворювали за методом [15], у кролів – за методом [1]. Об'єктами дослідження були сироватка крові, пародонт, внутрішньоочна рідина, кришталик, рогівка. Визначали показники ВРО (ТБК-реактанти, активність супероксиддисмутази, концентрацію перекису водню), загальну протеолітичну активність і активність  $\alpha_1$ -протеїназного інгібітора ( $\alpha_1$ -ПІ). У внутрішньоочній рідині досліджували концен-

© Л.М. Тарасенко, К.С. Непорада, В.В. Корольова, 2006.

трацію перекису водню, загальну протеолітичну активність, активність  $\alpha_1$ -ПІ та вміст загального білка.

Вміст ТБК-реактивних у досліджуваних тканинах визначали за методом [9], активність супероксиддисмутази – за методом О.С. Брусова [2], перекису водню – методом йодомеричного титрування [16]. Загальний білок у внутрішньоочній рідині досліджували біуретовим методом [6]. Загальну протеолітичну активність біологічних рідин визначали за колориметричним методом Мура і Стейна [13] і виражали в мкмольх відщепленого гліцину за 1 хв інкубації на 1 мл рідини або 1 г тканини, активність  $\alpha_1$ -ПІ – за методом [3]. Колагенолітичну активність тканин пародонта досліджували за методом [17].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Нами встановлено, що за умов гострого емоційного стресу в сироватці крові й тканинах пародонта збільшувався вміст продуктів ВРО, хоча вираження змін було неоднаковим. Про це свідчило достовірне підвищення в середньому на 130 % темпів накопичення ТБК-реактивних у пародонті на фоні зниження активності супероксиддисмутази в сироватці крові та підвищення перекисного гемолізу еритроцитів порівняно з контролем (табл. 1).

Тканини пародонта містили багато колагену, що забезпечувало їх опірну функцію. За умов гострого стресу суттєво підвищувалася в 1,4 раза загальна колагенолітична активність

пародонта (табл. 1), що сприяло послабленню його механічних властивостей і було провідним фактором розхитування та елімінації зубів [11, 12].

Гострий стрес супроводжувався зростанням загальної протеолітичної активності сироватки крові, яка перевищувала контрольний показник в 1,4 раза (див. табл. 1). При цьому активність  $\alpha_1$ -ПІ в сироватці крові відзначалась тенденцією до зниження (див. табл. 1). Отже, гострий стрес характеризується підсиленням

протеолізу, що розвивається паралельно активації вільнорадикальних процесів.

Відомо, що орган зору має високі захисні механізми, морфологічну основу яких складає гематофтальмічний бар'єр (ГОБ). За умов гострого стресу в кролів загальна протеолітична активність внутрішньоочної рідини суттєво не змінювалася, а активність  $\alpha_1$ -ПІ значно зросла – у 3,9 раза порівняно з контролем (табл. 2). Але при цьому у внутрішньоочної рідини збільшився вміст перекису

Таблиця 1 – Показники вільнорадикального окиснення і протеолізу в крові та тканинах пародонта за умов гострого емоційного стресу в щурів (M±m)

| Показники  | Контроль          | Стрес              |
|--|-------------------|--------------------|
| Кров:<br>Перекисний гемоліз, %   | 9,3±0,47<br>(6)   | 11,95±0,26*<br>(6) |
| Супероксиддисмутаза, ум. од.   | 11,6±1,01<br>(12) | 2,99±0,33*<br>(6)  |
| Загальна протеолітична активність, мкмоль/мл/хв  | 0,33±0,02<br>(9)  | 0,47±0,05*<br>(7)  |
| Активність $\alpha_1$ -протеїназного інгібітора, ІО/мл   | 32,4±1,7<br>(10)  | 28,2±3,0<br>(10)   |
| Перекис водню, од./мл  | 2,12±0,59<br>(6)  | 2,52±0,72<br>(7)   |
| Пародонт:<br>ТБК-реактанти, приріст у відсотках відносно вихідного рівня при інкубації через 3 год | 147±16,5<br>(5)   | 277±43,2*<br>(5)   |
| Загальна колагенолітична активність, мкмоль/г/хв   | 9,4±0,9<br>(9)    | 12,8±0,9*<br>(9)   |

Примітка. \* – достовірна різниця між групами "контроль" і "стрес" (p<0,05); в дужках вказано кількість тварин.

Таблиця 2 – Біохімічні показники органа зору в кролів за умов гострого стресу (M±m)

| Показники  | Внутрішньоочна рідина | Рогівка            | Кришталік          |
|--|-----------------------|--------------------|--------------------|
| Перекис водню, од./мл<br>контроль                                  | 0,82±0,03<br>(10)     | -                  | -                  |
| стрес  | 1,18±0,12*<br>(10)    | -                  | -                  |
| Загальна протеолітична активність, мкмоль/г/хв<br>контроль         | 0,61±0,05<br>(10)     | 4,17±0,41<br>(11)  | 2,12±0,17<br>(18)  |
| стрес  | 0,54±0,04<br>(10)     | 6,24±0,44*<br>(11) | 4,26±0,06*<br>(10) |
| Активність $\alpha_1$ -протеїназного інгібітора, ІО/мл<br>контроль | 1,17±0,47<br>(10)     | -                  | -                  |
| стрес  | 4,61±1,52*<br>(10)    | -                  | -                  |
| Загальний білок, г/л<br>контроль                                   | 1,31±0,07<br>(10)     | -                  | -                  |
| стрес  | 1,70±0,06*<br>(10)    | -                  | -                  |

Примітка. \* – достовірна різниця між досліджуваними групами (p<0,05); в дужках вказано кількість тварин.

водню – проміжного продукту вільнорадикальних процесів, який проявляє цитолітичну дію [4] і здатний викликати дегенеративні зміни в тканинах [14]. Можливо, окиснена деструкція білків зумовлює підвищення проникності ГОБ, показником якого є зростання вмісту загального білка у внутрішньоочній рідині (табл. 2). Емоційний стрес призводить до дезінтеграції функціональних систем гомеостатичного рівня, один із проявів якої – порушення проникності тканинних бар'єрів [10]. Зростання загальної протеолітичної активності прозорих аваскулярних тканин

органа зору – рогівки і кришталика, ймовірно, також є наслідком стресорного ушкодження і порушення функції ГОБ (див. табл. 2). Відомо, що окисненим білкам притаманна підвищена чутливість до протеолізу [4].

**ВИСНОВОК.** При гострому стресі спостерігається певний паралелізм змін активації вільнорадикальних і протеолітичних процесів у крові й тканинах пародонта. Гомеостаз внутрішнього середовища органа зору порушується за умов гострого стресу, що сприяє підвищенню протеолітичних процесів і проникності гематофтальмічного бар'єру.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Бельченко Д.И., Лазарев В.И. Особенности липидного состава крови при эмоциональном напряжении у кроликов с дислиппротеинемией // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 1989. – № 2. – С. 10-13.
2. Брусов О.С., Герасимов А.М., Панченко Л.Ф. Влияние природных ингибиторов радикальных реакций на автоокисление адреналина // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1976. – **81**, № 1. – С. 33-35.
3. Веремеенко К.Н., Голобородько О.П., Кизим Л.М. Протеолиз в норме и при патологии. – К.: Здоров'я, 1988. – 200 с.
4. Дубініна О.Ю. Окиснювальний стрес і окиснювальна модифікація білків // Мед. хімія. – 2001. – **3**, № 2. – С. 5-12.
5. Меерсон Ф.З., Пшеникова М.Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. – М.: Медицина, 1988. – 256 с.
6. Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. и др. Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
7. Панин Л.Е., Маянская Н.Н. Лизосомы: роль в адаптации и восстановлении. – Новосибирск: Наука, 1987. – 199 с.
8. Самохін А.О. Активність нейтральних протеїназ та їх інгібіторів при оксидативному стресі у щурів: Автореф. дис... канд. біол. наук. – Харків, 2002. – 20 с.
9. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод опре-

деления малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.

10. Судаков К.В. Информационные грани жизнедеятельности // Вестн. Рос. АМН. – 2002. – № 6. – С. 8-13.

11. Тарасенко Л.М., Петрушанко Т.А. Стресс и пародонт. – Полтава, 1999. – 192 с.

12. Ткаченко Є.К. Вплив гострого емоційно-больового стресу на стан пародонта старих і молодих щурів // Одес. мед. журн. – 2002. – № 3 (71). – С. 25-29.

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

14. Davies J.A., Delsignore M.E. Protein damage and degradation by oxygen radicals. Modification of secondary and tertiary structure // J. Biol. Chem. – 1997. – **262**, № 20. – P. 9908-9913.

15. Desiderato O., Mac Kinnon J.K., Nisson H. Development of gastric ulcers in rats following stress determination // J. Comp. Physiol. Psychol. – 1974. – **87**. – P. 208-214.

16. Graf E., John T.P. Method for determination of hydrogen peroxide with its application illustrated by glucose assay // J. Clin. Chem. – 1980. – **26**, № 5. – P. 658-660.

17. Mandl I., MacLennan G., Howes E. Collagenolytic activity determination // J. Clin. Invest. – 1953. – **32**. – P. 1323-1329.

## ПАРАЛЛЕЛИЗМ АКТИВАЦИИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ И ПРОТЕОЛИЗА В ТКАНЯХ ПРИ ОСТРОМ ЭМОЦИОНАЛЬНОМ СТРЕССЕ

**Л.М. Тарасенко, К.С. Непорада, В.В. Королева**  
ВЫСШЕЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧЕБНОЕ ЗАВЕДЕНИЕ  
"УКРАИНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ"

### Резюме

*На модели острого эмоционального стресса у крыс обосновано положение о параллелизме активации свободнорадикальных процессов в крови и тканях пародонта. В этих условиях повышается проницаемость гематоофтальмического барьера, вероятно, вследствие увеличения содержания перекиси водорода во внутриглазной жидкости.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** острый стресс, свободнорадикальные процессы, протеолиз, пародонт, орган зрения.

## PARALLELISM OF ACTIVATION OF FREE RADICAL PROCESSES AND PROTEOLYSIS IN TISSUES AT ACUTE EMOTIONAL STRESS

**L.M. Tarasenko, K.S. Noporada, V.V. Korolyova**  
HIGHER STATE EDUCATIONAL INSTITUTION  
"UKRAINIAN MEDICAL STOMATOLOGICAL ACADEMY"

### Summary

*The principle of parallelism of activation of free radical processes in blood and in the tissues of parodont is proved in a model of acute emotional stress in rats. In such conditions the permeability of hemato-ophthalmic barrier increases, probably due to a rise of hydrogen peroxide concentration in the intraocular liquid.*

**KEY WORDS:** acute stress, free radical processes, proteolysis, parodont, organ of vision.

**Адреса для листування:** Л.М. Тарасенко, Українська медична стоматологічна академія, кафедра медичної, біологічної та біоорганічної хімії, вул. Шевченко, 23, Полтава, 36024, Україна.

## ВПЛИВ ТІОЛЬНИХ СПОЛУК ТА ЇХ ДИСУЛЬФІДНИХ ФОРМ НА АГРЕГАЦІЮ ТРОМБОЦИТІВ ЛЮДИНИ

Н.В. Заїчко<sup>1,2</sup>, О.О. Пентюк<sup>2</sup>

УКРАЇНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ НДІ РЕАБІЛІТАЦІЇ ІНВАЛІДІВ<sup>1</sup>, ВІННИЦЯ  
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА<sup>2</sup>

Досліджено вплив відновлених тіолів (гомоцистеїну, цистеїну, глутатіону) та їх дисульфідних форм на ADP- і адреналініндуковану агрегацію тромбоцитів людини. Встановлено, що гомоцистеїн та цистеїн *in vitro* в широкому діапазоні концентрацій, включаючи і близькі до фізіологічних, дозозалежно посилюють ADP-індуковану агрегацію тромбоцитів, а відновлений глутатіон її гальмує. Дисульфідні форми цих сполук не впливають на агрегацію тромбоцитів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **тромбоцити, агрегація, гомоцистеїн, цистеїн, глутатіон.**

ВСТУП. Одним з механізмів проатерогенної та тромбогенної дій високих рівнів гомоцистеїну (Hcy) є ініціювання оксидативної модифікації рецепторів клітин, зміна редокс-статусу білків, модифікація білків, згортання крові шляхом їх S-гомоцистеїнування [1]. Доведено здатність Hcy гальмувати ADP-азну активність ендотеліальних клітин, що призводить до накопичення ADP – головного індуктора агрегації тромбоцитів [4]. Відомо, що одним із ключових моментів регуляції функції білків, у тому числі білків тромбоцитів, є модуляція редокс-статусу їх тіольних груп та тіолдисульфідний обмін з глутатіоном (GSH) й іншими тіолами [3]. Якщо наявність у Hcy тромбогенних властивостей можна вважати більш-менш доведеною, то вплив інших тіолів, зокрема цистеїну (Cys) та GSH (які присутні в крові навіть у більших концентраціях, ніж Hcy), на функції тромбоцитів не досліджено. Залишається також невідомим, з якою формою зазначених сполук (відновленою тіольною чи окисненою дисульфідною) пов'язаний їх вплив на тромбоцити.

Метою роботи була оцінка впливу Hcy, Cys та GSH і їх дисульфідних форм на ADP- та адреналініндуковану агрегацію тромбоцитів людини в модельній системі *in vitro*.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Венозну кров отримували у здорових волонтерів (віком 20-40 років), які останні 7-10 днів не приймали препаратів, що впливають на агрегацію тром-

боцитів. Кров набирали в пластикову пробірку з 3,8 % розчином лимоннокислого натрію у співвідношенні 9:1. Збагачену тромбоцитами плазму (ПЗТ) отримували шляхом центрифугування стабілізованої крові при 300 г упродовж 5 хв при 18-22 °С. Бідну на тромбоцити плазму (ПБТ) одержували шляхом подальшого центрифугування ПЗТ при 1500 г упродовж 20 хв. У ПЗТ визначали кількість тромбоцитів і, за необхідності, розбавляли її ПБТ до концентрації 250 000 клітин в 1 мкл.

Агрегатометрію виконували в перші три години після забору крові на фотооптичному агрегометрі AP2110 "Солар" (Білорусь) при додаванні індукторів агрегації тромбоцитів. Оцінювали: максимальний ступінь агрегації (MCA, %); швидкість агрегації в перші 30 с (ША, % за 1 хв); час агрегації (ЧА, с) – час досягнення MCA.

Вплив тіольних сполук на агрегацію тромбоцитів людини досліджено *in vitro*: ПЗТ інкубували впродовж 10 хв при 37 °С в присутності Hcy, Cys, GSH, гомоцистину, цистатіоніну та глутатіондисульфиду ("Sigma", США) в концентраціях 0,01, 0,1 та 1,0 мМ (такий діапазон концентрацій охоплює і фізіологічні рівні цих речовин у крові). Контролем слугувала нативна ПЗТ, інкубована впродовж 10 хв при 37 °С. Агрегацію ініціювали шляхом внесення 2,5-5 мкМ ADP або адреналіну ("Технологія-Стандарт", Росія), і впродовж 10 хв реєстрували процес агрегації тромбоцитів.

© Н.В. Заїчко, О.О. Пентюк, 2006.

Таблиця 1 – Вплив тіольних сполук та їх дисульфідів на ADP-індуковану агрегацію тромбоцитів за середніми величинами з 8-15 спостережень (M±m)

| Показники агрегації тромбоцитів | Концентрація речовин |            |            |            |
|---------------------------------|----------------------|------------|------------|------------|
|                                 | 0 (контроль)         | 0,01 мМ    | 0,1 мМ     | 1 мМ       |
| Гомоцистеїн (Hcy)               |                      |            |            |            |
| МСА, %                          | 80,2±2,24            | 88,4±1,69* | 94,7±1,53* | 96,3±3,24* |
| ЧА, с                           | 415,0±20,3           | 441,6±29,9 | 438,0±35,3 | 402,6±15,8 |
| ША, % за 1 хв                   | 66,4±3,62            | 75,3±2,60  | 77,7±2,76* | 79,1±4,68* |
| Цистеїн (Cys)                   |                      |            |            |            |
| МСА, %                          | 67,5±2,45            | 68,7±3,36  | 75,7±3,07* | 80,6±3,82* |
| ЧА, с                           | 364,0±28,7           | 361,7±24,9 | 398,8±32,9 | 410,3±26,3 |
| ША, % за 1 хв                   | 58,4±3,48            | 59,7±3,34  | 59,1±3,30  | 60,5±3,61  |
| Глутатіон (GSH)                 |                      |            |            |            |
| МСА, %                          | 84,3±4,33            | 80,6±3,85  | 78,2±5,29  | 63,5±6,26* |
| ЧА, с                           | 350,1±20,2           | 355,3±20,7 | 363,3±27,4 | 327,1±46,9 |
| ША, % за 1 хв                   | 75,9±3,79            | 70,5±2,78  | 69,7±2,86  | 60,5±3,08* |
| Гомоцистин                      |                      |            |            |            |
| МСА, %                          | 81,3±4,96            | 82,2±4,37  | 84,7±5,44  | 88,0±3,86  |
| ЧА, с                           | 429,4±46,6           | 427,4±11,3 | 405,6±21,9 | 408,8±18,3 |
| ША, % за 1 хв                   | 56,1±4,36            | 63,9±3,42  | 67,8±2,53* | 68,0±2,22* |
| Цистатіонін                     |                      |            |            |            |
| МСА, %                          | 68,6±7,80            | 70,4±8,27  | 78,6±10,5  | 77,5±8,95  |
| ЧА, с                           | 364,0±28,7           | 361,7±24,9 | 398,8±32,9 | 410,3±26,3 |
| ША, % за 1 хв                   | 58,4±3,48            | 59,7±3,34  | 59,1±3,30  | 60,5±3,61  |
| Глутатіондисульфід              |                      |            |            |            |
| МСА, %                          | 84,3±4,33            | 80,7±4,06  | 80,3±4,77  | 72,5±4,21  |
| ЧА, с                           | 350,1±20,2           | 357,2±23,4 | 360,4±29,4 | 344,8±33,0 |
| ША, % за 1 хв                   | 75,9±3,79            | 71,0±3,29  | 70,7±4,13  | 66,0±5,26  |

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

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Встановлено, що інкубація ПЗТ з від-новленими тіолами викликала достовірні зміни ADP-індукованої агрегації тромбоцитів, тоді як інкубація ПЗТ з відповідними дисульфідами практично не спричиняла ефекту (табл. 1). Жодна із зазначених сполук вірогідно не впливала на адреналініндуковану агрегацію тромбоцитів.

При цьому МСА та ША ADP-індукованої агрегації тромбоцитів дозозалежно посилювались у присутності Hcy або Cys та зменшувались у присутності GSH. Найбільший вплив на процеси агрегації зазначені сполуки проявляли в концентраціях 0,1 та 1,0 мМ, причому Hcy достовірно посилював агрегацію вже в 0,01 мМ концентрації. Зокрема, МСА тромбоцитів після інкубації з 0,01, 0,1 та 1,0 мМ Hcy збільшився на 10,2, 18,0 та 20,0 % відповідно, а ША зросла на 13,4, 17,0 та 19,1 %. Cys в 0,01 мМ концентрації не впливав на агрегацію тромбоцитів, але в концентраціях 0,1 та 1,0 мМ достовірно підвищував МСА на 12,5 та 19,4 % відповідно, хоча ША за цих умов достовірно не змінювалась.

Інкубація ПЗТ з GSH викликала тенденцію до зменшення МСА та ША при концентраціях 0,01 і 0,1 мМ та вірогідне пригнічення цих параметрів (на 24,7 та 20,2 % відповідно) при концентрації 1 мМ. Щодо дисульфідів встанов-

лено, що гомоцистин незначно збільшував тільки ША, а глутатіондисульфід та цистатіонін достовірно не впливали на жодний параметр агрегації тромбоцитів.

**ВИСНОВОК.** Hcy та Cys дозозалежно активують, а GSH гальмує ADP-індуковану агрегацію тромбоцитів, суттєво не впливаючи на адреналініндуковану агрегацію. Відсутність впливу цих сполук на адреналініндуковану агрегацію тромбоцитів, очевидно, пов'язана з відмінностями в будові та шляхах трансдукції сигналу адренергічних і пуринаергічних рецепторів тромбоцитів [2, 3]. Зокрема, останні відзначаються високою чутливістю до окисників та відновників, а редокс-статус ADP-рецепторів регулюється протеїн-дисульфідізомеразою, глутатіонредуктазою, тіоредоксином та іншими ферментами, що експресуються на поверхні тромбоцитів. Про ймовірність саме редокс-залежного механізму впливу досліджених сполук на агрегацію тромбоцитів свідчить також і те, що модулююча активність притаманна лише відновленим (тіольним) формам сполук, а не їх дисульфідним аналогам. Наявність у GSH гальмівної, а у Hcy та Cys стимулювальної дії щодо тромбоцитів, можливо, пов'язана зі впливом на різні білки-мішені в тромбоцитах.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Пентюк О.О., Луцюк М.Б., Андрушко І.І., Постовітенко К.П. Метаболізм гомоцистеїну та його роль у патології // Укр. біохім. журн. – 2003. – **75**, № 1. – С. 5-17.
2. Dorsam R.T., Kunapuli S.P. Central role of the P2Y12 receptor in platelet activation // J. Clin. Invest. – 2004. – **113**. – P. 340-345.
3. Essex D.W. The role of thiols and disulfides in platelet function // Antioxid. Redox. Signal. – 2004. – **6**, № 4. – P. 736-746.
4. Harpel P.C., Zhang X., Borth W. Homocysteine and hemostasis: pathogenic mechanisms predisposing to thrombosis // J. Nutr. – 1996. – **126**, № 4 (Suppl.). – P. 1285-1289.

## ВЛИЯНИЕ ТИОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ИХ ДИСУЛЬФИДНЫХ ФОРМ НА АГРЕГАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

**Н.В. Заичко<sup>1,2</sup>, А.А. Пентюк<sup>2</sup>**

УКРАИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НИИ РЕАБИЛИТАЦИИ ИНВАЛИДОВ<sup>1</sup>, ВИННИЦА  
ВИННИЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. Н.И. ПИРОГОВА<sup>2</sup>

#### Резюме

Исследовано влияние восстановленных тиолов (гомоцистеина, цистеина, глутатиона) и их дисульфидных форм на ADP- и адреналининдуцированную агрегацию тромбоцитов человека. Установлено, что гомоцистеин и цистеин *in vitro* в широком диапазоне концентраций, включая и близкие к физиологическим, дозозависимо усиливают ADP-индуцированную агрегацию тромбоцитов, а восстановленный глутатион ее угнетает. Дисульфидные формы этих соединений не влияют на агрегацию тромбоцитов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **тромбоциты, агрегация, гомоцистеин, цистеин, глутатион.**

## THE INFLUENCE OF THIOL COMPOUNDS AND THEIR DISULFIDE FORMS ON HUMAN PLATELET AGGREGATION

**N.V. Zaichko<sup>1,2</sup>, O.O. Pentiu<sup>2</sup>**

UKRAINIAN STATE SCIENTIFIC RESEARCH INSTITUTE OF INVALID REHABILITATION<sup>1</sup>, VINNYTSIA  
VINNYTSIA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY M.I. PYROHOV<sup>2</sup>

#### Summary

The influence of reduced thiols (homocysteine, cysteine, glutathione) and their disulfide forms on human platelet aggregation induced by ADP or epinephrine was investigated. It was established that *in vitro* homocysteine and cysteine increased ADP-induced platelet aggregation in a wide range of concentrations including the physiological levels, but reduced glutathione inhibited it. Disulfide forms of these compounds didn't influence on platelet aggregation.

KEY WORDS: **platelets, aggregation, homocysteine, cysteine, glutathione.**

Адреса для листування: Н.В. Заичко, УкрДерж НДІ РІ, Хмельницьке шосе, 104, Вінниця, 21100, Україна.

## СТАН ПРООКСИДАНТНОЇ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ ПРИ РІЗНИХ ОНКОПАТОЛОГІЯХ

**Н.В. Фартушок, О.П. Хаврона, О.П. Мелех, М.Д. Ступницький, Т.Д. Дзецюх**  
Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

*Вивчали систему оксиду азоту, окиснювальну модифікацію білків та стан антиоксидантного захисту у хворих на різні онкологічні захворювання (рак легень, шлунка, товстої кишки). Проведені дослідження показали зниження активності антиоксидантної системи, активацію ліпопероксидації та процесів окиснювальної модифікації білків у пацієнтів з різними онкопатологіями. Вивчені параметри можна використовувати як інформативні індекси для оцінки тяжкості стану хворих на онкозахворювання.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** онкозахворювання, антиоксидантна система, окиснювальна модифікація білків, оксид азоту.

**ВСТУП.** Онкологічні захворювання є одними з найпоширеніших у всьому світі. Вони характеризуються динамічним клінічним перебігом, часто швидким прогресуючим ростом та супровідним розвитком у пацієнтів тяжкого інтоксикаційного стресу.

Канцерогенез – складний, багатостадійний процес, що викликає різні зміни в клітині-мішені. Причиною порушення є активація перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) мембран ендоплазматичного ретикулума.

При патологічних процесах, які супроводжуються посиленням вільнорадикальних реакцій, зокрема онкопатології, змінюються фосfolіпідний склад мембран клітин та їх властивості, що знижує активність мембранозв'язаних ферментів.

Одним з основних засобів протидії цим явищам є ендогенні речовини – антиоксиданти, які підтримують на необхідному рівні активність антиоксидантної системи (АОС) [4]. Ця система контролює рівень вільнорадикальних реакцій окиснення і запобігає накопиченню в організмі їх токсичних продуктів. Тому стан АОС необхідно знати на етапах діагностики та прогнозування перебігу патології в організмі людини, зокрема при пухлинному рості [2].

Оксид азоту (NO) бере опосередковану участь в ініціації пухлинного росту, коли природні кілери і макрофаги вбивають пухлинні клітини. NO може також супресувати пухлинний захист та стимулювати ангиогенез пухлин і постачання крові в пухлину [1,9].

© Н.В. Фартушок, О.П. Хаврона, О.П. Мелех, М.Д. Ступницький, Т.Д. Дзецюх, 2006.

Усі онкологічні захворювання супроводжуються змінами в системі оксиду азоту, порушенням рівноваги між прооксидантною та антиоксидантною системами, що призводить до порушень структури і функцій клітинних мембран та проявляється глибокими порушеннями окиснювальної деструкції білків та стану антиоксидантного захисту [7].

Саме тому метою нашої роботи було визначити інтенсивність перекисного окиснення ліпідів, зміни активності ферментів антиоксидантного захисту, окиснювальну модифікацію білків (ОМБ) плазми крові та рівень оксиду азоту при різних онкозахворюваннях.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Було обстежено 32 пацієнти віком 55-70 років з такими онкозахворюваннями: 15 – з бронхогенною аденокарциномою (II-III клінічні стадії), 10 – з аденокарциномою шлунка (II-III клінічні стадії) та 7 – з аденокарциномою товстої кишки (II-III клінічні стадії). Усі клінічні діагнози були підтверджені гістологічним/цитологічним дослідженням. Зразки крові відбирали перед тим як пацієнти отримували будь-який з видів протипухлинної терапії. Контрольну групу склали 10 донорів.

З ліктьової вени відбирали 5 мл венозної крові (натщесерце), після чого її гепаринізували (5 МО/мл), далі відмивали еритроцити за стандартною схемою.

Концентрацію нітрит-аніона визначали на основі кольорової реакції з реактивом Грісса [10] і виражали в мкмоль/л, рівень малонового діальдегіду (МДА) – за методом Р.А. Тімірбулатова і Е.І. Селезньова [8] і виражали в



мкмоль/л, активність каталази (КАТ) – за методом М.А. Королюка [5] і виражали в ммоль  $H_2O_2$ /мл-год, ОМБ – за методом Е.Е. Дубініної [3] і виражали в одиницях оптичної густини на 1 мл сироватки крові (ООГ/мл).

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Microsoft Excel, використовуючи критерій Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Згідно з отриманими даними, рівні нітрит-аніона були практично однаковими у пацієнтів з раком легень та раком товстої кишки – 7,97 та 7,53 мкмоль/л (у 5,7-6 разів вищими порівняно зі здоровими та у 7 разів вищими порівняно з контролем у хворих на рак шлунка) (табл. 1).

Відзначено зростання рівня МДА у всіх групах хворих, особливо збільшувався цей показник у хворих на рак шлунка (в 1,7 раза), товстої кишки (в 1,6 раза) і легень (в 1,2 раза) порівняно з контрольною групою, що вказувало на значне підвищення інтенсивності процесів ліпопероксидації.

Корелювало з цими даними і збільшення ОМБ. У всіх хворих підвищувався рівень як нейтральних, так і основних ОМБ, при цьому спостерігалася кореляція між ступенями зростання нОМБ та оОМБ. Найбільший рівень

основних та нейтральних основ вільнорадикально пошкоджених білків відмічено у хворих на рак легень (в 1,8 раза), дещо менший – при раку шлунка (в 1,7 раза) і товстої кишки (в 1,6 раза). Інтенсифікація процесів ПОЛ, яка відбувається при онкологічних захворюваннях, призводить до порушень структури клітинних мембран і зміни функціональної активності рецепторного апарату за рахунок вільнорадикальних продуктів. Виявлене нами підвищення інтенсивності ОМБ плазми крові людей, хворих на рак, фактично відображає загальну направленість вільнорадикальних процесів, зокрема окиснення білків у всьому організмі.

Активність ферменту першої лінії захисту – каталази достовірно знижувалася у всіх хворих: на рак шлунка – в 1,7 раза, легень – в 1,2 раза та товстої кишки – в 1,1 раза порівняно з контролем, що вказувало на значні зрушення в окисдантно-антиоксидантному стані організму. Зниження активності КАТ призводило до накопичення в тканинах пероксиду водню. Останній при одноелектронному відновленні генерував гідроксильний радикал, який викликав активацію ПОЛ клітинних мембран і окиснювальну модифікацію білків, що врешті-решт призводило до загибелі клітини.

Таблиця 1 – Порівняння станів прооксидантної та антиоксидантної систем при різних онкопатологіях

| Показники                   | Контроль   | Рак легень | Рак шлунка | Рак товстої кишки |
|-----------------------------|------------|------------|------------|-------------------|
| нОМБ, ООГ/мл                | 3,42±0,09  | 6,27±0,13  | 5,91±0,12  | 5,54±0,14         |
| оОМБ, ООГ/мл                | 1,89±0,03  | 3,37±0,1   | 3,1±0,08   | 2,59±0,1          |
| КАТ, ммоль $H_2O_2$ /мл-год | 84,35±3,99 | 67,84±3,1  | 50,14±2,8  | 77,94±3,4         |
| МДА, Мкмоль/л               | 86,91±0,99 | 100,94±3,5 | 147,22±5,3 | 139,67±6,4        |
| $NO_2^-$ , Мкмоль/л         | 1,31±0,05  | 7,97±0,09  | 9,12±0,07  | 7,53±0,05         |

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

**ВИСНОВКИ.** Отримані результати підтверджують зниження ефективності захисної функції антиоксидантної системи, про що свідчить вмістом МДА та оксиду азоту, що є безпосереднім наслідком інтоксикації організму, яка супроводжує онкозахворювання.

При онкозахворюваннях спостерігається активація процесів ОМБ. Ступінь ОМБ залежить від виду патології.

Усі отримані результати демонструють системний вплив різних пухлин на організм, що ускладнює процеси метаболізму, за умов пухлинного росту.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Винк Д.А., Водовоз И., Кук Дж.А. и др. Значение химических свойств оксида азота для лечения онкологических заболеваний // Биохимия. – 1998. – **63**, вып. 7. – С. 948-957.
2. Давыдов В.В., Божков А.И. Метаболизм эндогенных альдегидов: участие в реализации повреждающего действия оксидативного стресса

и его возрастные аспекты // Биомед.химия. – 2003. – **49**, № 4. – С. 374-387.

3. Дубинина Е.Е., Коновалов П.В., Солитернова И.Б. и др. Окислительная модификация белков плазмы крови у пожилых людей с сосудистой деменцией // Укр. біохім. журн. – 2001. – **73**, № 1. – С. 125-132.

4. Зозуля Ю.А., Сенько Л.Н. Мультифункциональность и метаболизм оксида азота в центральной нервной системе (обзор литературы) // Журн. АМН України. – 2000. – 6, № 1. – С.3-25.

5. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 18-19.

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

7. Сухаель Саїді Бен Мухамед. Активність каталази крові у хворих на доброякісні та злоякісні пухлини яєчників // Клін. та експерим. патологія. – 2005. – 4, № 1. – С. 90-92.

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

9. Удинцев С.Н., Разина Т.Г., Яременко К.В. О противоопухолевом эффекте шлемника Байкальского // Вопр. онкол. – 1990. – 36, № 5. – С. 602-609.

10. Green L.C., Wagner D.A., Glogowski J. et al. Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrite in biological fluids // Anal. Biochem. – 1982. – 126. – P. 131-138.

11. Patel R.P., McAndrew J., Sellak H. et al. Biological aspects of reactive nitrogen species // Biochim. Biophys. Acta. – 1999. – 1411. – P. 385-400.

## СОСТОЯНИЕ ПРООКСИДАНТНОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ОНКОПАТОЛОГИЯХ

**Н.В. Фартушок, О.П. Хаврона, О.П. Мелех, М.Д. Ступницький, Т.Д. Дзезюх**  
Львовский национальный медицинский университет им. Данила Галицкого

### Резюме

Изучали систему оксида азота, окислительную модификацию белков и состояние антиоксидантной защиты у больных с различными онкологическими заболеваниями (рак легких, желудка, толстой кишки). Проведенные исследования показали снижение активности антиоксидантной системы, активацию липопероксидации и процессов окислительной модификации белков у пациентов с различными онкопатологиями. Изученные параметры можно использовать в качестве информативных индексов для оценки тяжести состояния у больных с онкозаболеваниями.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** онкозаболевания, антиоксидантная система, окислительная модификация белков, оксид азота.

## STATE OF PROOXIDANT AND ANTIOXIDANT SYSTEMS IN PATIENTS WITH DIFFERENT NEOPLASTIC DISEASES

**N.V. Fartushok, O.P. Khavrona, O.P. Melekh, M.D. Stupnytsky, T.D. Dzetsyukh**  
LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY

### Summary

Nitric oxide system, oxidative modification of proteins and antioxidant defence system were studied in the patients with different neoplastic diseases (lung, gastric and colon cancer). Our data analysis revealed decrease of antioxidant defence system, activation of lipoperoxidation and protein modification processes in patients with different malignancies. Studied parameters could be suggested as informative indices for the estimation of state severity in patients with oncological diseases.

**KEY WORDS:** antioxidant defence system, neoplastic diseases, nitric oxide, protein modification processes.

**Адреса для листування:** Н.В. Фартушок, Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, вул. Пекарська, 69а, Львів, 79001, Україна.

## ЕНЕРГООБМІН ТА АПОПТОЗ КЛІТИН КРОВІ ПРИ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОМУ СТРЕСІ

К.М. Ігрунова, Ю.І. Губський

НАЦІОНАЛЬНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ ІМ. П.Л. ШУПИКА  
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

*Показано, що перевага гліколітичного способу енергоутворення при іммобілізаційному стресі полягає в стимуляції синтетичної активності та активації апоптозу мононуклеарних клітин крові піддослідних тварин.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **стрес, апоптоз, мононуклеари, енергообмін.**

**ВСТУП.** Імуносупресія при хронічному стресі супроводжується зміною функціональної активності та морфологічного стану клітин крові, що перш за все зумовлюється їх енергообміном. Відомо, що при стресі імунокомпетентні клітини можуть гинути шляхом апоптозу, який теж є енергозалежним процесом [4]. Вивчення і розшифрування механізмів апоптозу – один із найбільш актуальних напрямків сучасної медичної науки. Вплив ендо- та екзогенних модуляторів енергообміну при стресі може прискорювати або затримувати апоптоз, регулюючи, таким чином, чисельність імунокомпетентних клітин і, відповідно, реакцію організму [1]. Тому доцільно було вивчити взаємозв'язок активності ферментів енергообміну та рівня апоптозу імунокомпетентних клітин при експериментальному стресі. Це обґрунтовує вивчення апоптозного індексу (AI) при хронічному стресі, серцево-судинних та інших захворюваннях як показника та критерію енергетичного і функціонального стану імунокомпетентних клітин, ефективності впливу на них енергокорегувальних засобів.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Іммобілізаційний 14-денний стрес відтворювали в експерименті на щурах за Ф.З. Меєрсоном. Визначали активність ферментів енергообміну: лактатдегідрогенази (ЛДГ) [5], сукцинатдегідрогенази (СДГ) [5], К-Na-АТФ-ази [5], НАДФН, ФАД [6], синтетичну активність (РНК/ДНК) у виділених на градієнті фікол-урографін клітинах крові [2]. Апоптоз у культурі мононуклеарних клітин крові (МНК), спонтанний та індукований дексаметазоном *in vitro*, вивчали з ядерним флуоресцентним барвником Hoechst 33342 методом

© К.М. Ігрунова, Ю.І. Губський, 2006.

флуоресцентної мікроскопії [3]. Усі експериментальні дослідження виконували з дотриманням міжнародних правил роботи з тваринами.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Аналіз результатів показав, що активність СДГ у лімфоцитах та нейтрофілах крові щурів при даній моделі стресу мало відрізнялася від контролю, спостерігалась тенденція до зниження активності СДГ у лімфоцитах.

Активність ЛДГ у лімфоцитах і нейтрофілах крові підвищувалася майже вдвічі. Зростання активності ЛДГ у лімфоцитах при стресі може бути пов'язаним з переходом від аеробного до анаеробного окиснення – гліколізу і супроводжуватися зниженням енергозабезпечення клітин (табл. 1).

У досліджуваних групах тварин вивчали також вміст піридиннуклеотидів та флавопротеїдів у нейтрофільних гранулоцитах крові, що дозволило отримати інформацію про функціональний стан цих клітин при стресі. Результати досліджень представлено в таблиці 2. Як видно з наведених результатів, у нейтрофілах крові стресованих тварин не спостерігалось накопичення окиснених форм флавопротеїдів та відновлених форм піридиннуклеотидів, що свідчило про порушення окиснювального метаболізму в цих клітинах. Такі зміни можуть призвести до дискоординації системи перенесення електронів до молекулярного кисню та активізувати оксигеназні процеси.

Результати з вивчення синтетичної активності лімфоцитів крові щурів при стресі наведено у таблиці 3. Як видно з даних, представлених у ній, у щурів при стресі спостерігалось підвищення показника синтетичної активності.

Вивчали активність K-Na-АТФ-ази цитоплазматичної мембрани лімфоцитів та нейтрофілів. Відомо, що цей фермент бере участь у формуванні трансмембранного потенціалу клітинної мембрани. Його активність залежить від рівня АТФ та стану фосфоліпідного шару цитоплазматичної мембрани і тому відразу змінюється при різних метаболічних та структурних зрушеннях (табл. 4).

Активність ферменту в лімфоцитах стресованих тварин була зниженою, порівняно з контрольними значеннями, на 35,7 %, а в нейтрофілах – підвищеною на 30 %, що свідчило про те, що в лімфоцитах енергоспоживання знижене, а в нейтрофілах підвищене. Разом із даними про активність ферментів енергоутворення (ЛДГ та СДГ) можна констатувати, що дана модель стресу стимулює енергообмін у нейтрофілах та пригнічує його в

лімфоцитах, що збуджує в них синтетичну активність.

Зрілі лімфоцити стійкі до індукції апоптозу, вони стають чутливими до неї після активації. Дисбаланс стимулювальних сигналів, повторна стимуляція і просто старіння активованих клітин призводять до розвитку апоптозу. Активація клітин (наприклад, стимуляція Т-лімфоцитів фітогемаглютиніном) зумовлює дві альтернативні форми відповіді: проліферації та апоптозу. Вибір цих двох форм відповіді реалізується на рівні індивідуальної клітини, а співвідношення між цими реакціями у відповідь на стимуляцію є одним з параметрів імунологічної реактивності, визначаючи співвідношення імунної відповіді й енергії, тобто результативність імунного захисту. Нами проводились експериментальні дослідження впливу іммобілізаційного стресу на апоптоз МНК крові щурів.

Таблиця 1 – Активність ЛДГ та СДГ у лімфоцитах щурів, які зазнали 14-денного іммобілізаційного стресу

|          | Лактатдегідрогеназа |               | Сукцинатдегідрогеназа |               |
|----------|---------------------|---------------|-----------------------|---------------|
|          | Лімфоцити           | Нейтрофіли    | Лімфоцити             | Нейтрофіли    |
| Контроль | 2,8±0,0392          | 1,7733±0,0559 | 1,87±0,029            | 1,6±0,0508    |
| Стрес    | 4,81±0,1176         | 3,82±0,2522   | 1,44±0,0349           | 1,5917±0,1009 |

Таблиця 2 – Вміст піридиннуклеотидів та флавопротеїдів у нейтрофільних гранулоцитах крові щурів при стресі, ум. од.

| Показник                    | 1-ша група            |                        | 2-га група             |  |
|-----------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|--|
|                             | М (МК)<br>n=20        | М (МК)<br>n=20         | М (МК)<br>n=20         | Вірогідність розбіжностей<br>$p_{1/2}$ |
| Вміст NADH та NADPH (в н/ф) | 65,83<br>(64,80-7,60) | 77,48<br>(72,30-85,50) | 77,48<br>(72,30-85,50) | <0,01                                  |
| Вміст FAD (в н/ф)           | 43,18<br>(35,40-7,50) | 42,73<br>(35,40-50,90) | 42,73<br>(35,40-50,90) | >0,05                                  |

Примітка. 1-ша група – інтактні щури, 2-га група – стресовані щури; М – середнє значення;  $p_{1/2}$  – вірогідність відхилення між 1 і 2 групами; МК – межі коливань; n – кількість тварин у групі, н/ф – нейтрофіли.

Таблиця 3 – Показники біосинтетичної активності лімфоцитів крові щурів при стресі

| Група тварин               | Інтактні  | Стрес                 |
|----------------------------|-----------|-----------------------|
| Показник $\alpha$ , ум.од. | 0,27±0,02 | 0,34±0,09<br>$p>0,05$ |

Примітка. p – достовірність відносно групи інтактних тварин.

Таблиця 4 – Активність K<sup>+</sup>-Na<sup>+</sup>-АТФ-ази у лімфоцитах та нейтрофілах крові щурів після 14-денного іммобілізаційного стресу (M±m)

|                 | Лімфоцити, ум. од.     | Нейтрофіли, ум. од.     |
|-----------------|------------------------|-------------------------|
| Контроль n=16   | 12,165±0,362           | 14,805±0,636            |
| Стресовані n=16 | 7,83±0,267<br>$p<0,05$ | 19,25±0,495<br>$p<0,05$ |

Таблиця 5 – Вплив 2-тижневого іммобілізаційного стресу на індукцію апоптозу в культурі МНК щурів, %

| Умови інкубації | Група                      |            |                              |            |
|-----------------|----------------------------|------------|------------------------------|------------|
|                 | 1-ша група (інтактні) n=24 |            | 2-га група (стресовані) n=26 |            |
|                 | % жив.кл.                  | AI         | % жив.кл.                    | AI         |
| Контроль        | 89,5±3,5                   | 9,6±2,3    | 86,0±7,9                     | 14,3±5,2*  |
| Дексаметазон    | 76,5±5,3**                 | 15,8±3,1** | 63,8±17,1**                  | 28,8±6,9** |

Примітка. \* –  $p<0,05$  порівняно з інтактними тваринами; \*\* –  $p<0,05$  порівняно з контролем.

Результати визначення AI в культурі МНК після інкубації протягом 18 год наведено в таблиці 5.

Одержані дані свідчать про те, що після дії 14-денного стресу підвищувався як спонтанний, так і індукований апоптоз МНК. Апоптозний індекс у зразках МНК після індукції дексаметазоном у інтактних тварин був достовірно вищим, ніж спонтанний (без індукції). Крім того, на фоні стресу інкубація клітин з дексаметазоном *in vitro* значно прискорювала їх руйнування шляхом некрозу, що свідчило про

підвищення їх чутливості до деструктивної дії дексаметазону при стресі.

**ВИСНОВКИ.** 1. Апоптозний індекс відображає енергетичний та функціональний стан мононуклеарних клітин крові.

2. 2-тижневий іммобілізаційний стрес призводить до переважання менш продуктивного, ніж аеробний, гліколітичного шляху енергоутворення, що компенсаторно активує синтетичну активність і супроводжується збільшенням відсотка імуніцитів, які стають на шлях апоптозу та некрозу.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Александров А.А. Диабетическое сердце: Схватка за митохондрии // *Consilium Medicum*. – 2003. – № 9. – С. 10-18.

2. Завгородняя Е.Г., Шахмардонов М.З., Исаева Н.П. Модифицированный метод определения функциональной активности лимфоцитов крови с использованием акридина оранжевого // *Клин. лаб. диагностика*. – 1993. – № 2. – С. 75-76.

3. Ігрунова К.М., Зозуля І.С., Моторна М.М., Степачова Т.І. Визначення спонтанного та індукованого апоптозу в культурі мононуклеарних клітин крові // *Метод. рекомендації*. – К., 2004. – 16 с.

4. Мхитарян Л.С., Орлова Н.Н., Евстратова И.Н. и др. Влияние острого и хронического стрессорного воздействия на структурно-функциональное состояние мембран кардиомиоцитов и форменных элементов крови // *Укр. кардиол. журн.* – 1998. – № 5. – С. 47-51.

5. Славинский А.А. Люминесценция активированных фагоцитов // *Архив анатомии, гистологии и эмбриологии*. – 1989. – № 10. – С. 53-56.

6. Wachstein M., Veisel E. Histochemistry of substrate specific at a physiological pH // *J. Histochem. Cytochem.* – 1957. – № 4. – P. 424.

## ЭНЕРГООБМЕН И АПОПТОЗ КЛЕТОК КРОВИ ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ

**К.М. Игрунова, Ю.И. Губский**

*НАЦИОНАЛЬНАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ ИМ. П.Л. ШУПИКА  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. О.О. БОГОМОЛЬЦА*

#### Резюме

*Показано, что преимущество гликолитического способа энергообразования при иммобилизационном стрессе заключается в стимуляции синтетической активности и активации апоптоза мононуклеарных клеток крови подопытных животных.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** стресс, апоптоз, мононуклеары, энергообмен.

## ENERGY METABOLISM AND BLOOD APOPTOSIS AT IMMOBILIZING STRESS

**K.M. Igrunova, Yu.I. Hubsy**

*NATIONAL MEDICAL ACADEMY OF POST-GRADUATE EDUCATION BY P.L. SHUPYK  
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLET*

#### Summary

*It has been shown that the advantage of glycolytic way of energy formation at immobilizing stress is accompanied by the stimulation of synthetic activity and activation of apoptosis of mononuclear blood cells of the experimental animals.*

**KEY WORDS:** stress, apoptosis, mononuclears, energy metabolism.

**Адреса для листування:** К.М. Ігрунова, Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, Київ, Україна.

## СТАН ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І БІЛКІВ ТА РІВЕНЬ МЕЛАТОНІНУ В ЖІНОК З КЛІМАКТЕРИЧНИМ СИНДРОМОМ

**Ф.В. Шикаєва, Н.С. Луценко, Н.Ф. Єфіменко, В.М. Плотнікова, Н.Т. Івахненко**  
ЗАПОРІЗЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ

*Обстежено 65 жінок віком від 42 до 65 років. З них 37 страждали від клімактеричного синдрому, в 28 клімакс мав фізіологічний перебіг. У всіх жінок вивчали стан перекисного окиснення ліпідів і білків, активність антиоксидантної системи та рівень у крові естрадіолу і мелатоніну. Зроблено висновок, що при клімактеричному синдромі на тлі дефіциту естрадіолу і мелатоніну та пригнічення активності антиоксидантної системи інтенсивність перекисного окиснення ліпідів і білків значно підвищується порівняно з фізіологічним клімаксом, що відповідає "оксидантному стресу". Пролонгований "оксидантний стрес" може бути одним із чинників розвитку дисрегуляторних патологічних порушень при клімактеричному синдромі.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** клімактеричний синдром, перекисне окиснення, мелатонін, "оксидантний стрес".

**ВСТУП.** Клімакс у жінок є одночасно нормою і хворобою: нормою – тому що клімакс у жіночому організмі цілком закономірний, а хворобою – тому що клімакс містить у собі стійке порушення регуляції, що призводить врешті-решт до зниження життєздатності організму [3]. При цьому порушення регуляторних процесів не обмежується системою "гіпоталамус-гіпофіз-яєчники", дисрегуляція проявляється на органному, тканинному, клітинному і субклітинному рівнях. В останні роки помітне посилення інтересу до процесів вільнорадикального окиснення, зокрема до перекисного окиснення білків і ліпідів, важливого механізму пошкодження молекулярних структур, як у процесі старіння, так і при розвитку різних видів залежної від віку патології [2]. Перекисне окиснення та інтенсивність дії активних продуктів регулюються в організмі багатокомпонентною антиоксидантною системою. Унаслідок дефіциту антиоксидантів перекисне окиснення білків і ліпідів стає надмірним, з'являються в неконтрольованій кількості токсичні вільні радикали, що чинять патогенну дію на клітинні мембрани і внутрішньоклітинні структури, зокрема мітохондрії, виникає "оксидантний стрес" клітини, який сам стає патогенетичним механізмом подальшого розвитку патологічного процесу [5]. Серед численних чинників, які регулюють процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у жіночому організмі, важливе місце займають естрогени і мелатонін – гормон епіфіза [4]. Мелатонін, один із чинників адап-

тації, регулює гомеостаз відповідно до змін навколишнього середовища і дії екологічних та патогенних чинників на організм. Адаптивна дія мелатоніну в людини і тварин зумовлена трьома найважливішими функціями: ритморегулюючою, імунomodуючою та антиоксидантною [1].

Метою даного дослідження було вивчення взаємозв'язку між особливостями перекисного окиснення білків і ліпідів та рівнями естрадіолу і мелатоніну в жінок із фізіологічним перебігом клімаксу і при клімактеричному синдромі (КС).

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Обстежено 65 жінок віком від 42 до 65 років. З них 37 (1-ша група) страждали від КС, у 28 (2-га група) клімактеричний період перебігав без патологічних проявів. Середній вік жінок із КС склав (45,8±3,9) року, з фізіологічним клімаксом (2-га група) – (47,0±4,6) року.

КС перебігав з ознаками випадання функції яєчників, діенцефальними порушеннями, артеріальною гіпертензією, емоційною лабільністю. Діагноз встановлювали на підставі повного клінічного обстеження з використанням тестів функціональної діагностики, визначення рівня яєчникових стероїдів, ЛГ, ФСГ, екскреції із сечею 17-кетостероїдів і дегідроепіандростерону.

У всіх жінок визначали в крові рівень естрадіолу радіоімунним методом з використанням наборів реактивів фірми "IMMUNOTECH" (Чехія), мелатоніну – спектрофлуориметричним методом. Про стан ПОЛ і антиоксидантної системи судили за рівнем у крові малонового діальдегіду, активністю каталази, вмістом

© Ф.В. Шикаєва, Н.С. Луценко, Н.Ф. Єфіменко, В.М. Плотнікова, Н.Т. Івахненко, 2006.

ретинолу й альфа-токоферолу. Інтенсивність перекисного окиснення білків оцінювали за вмістом у крові карбонілованих білків.

Результати досліджень порівнювали з тими у 12 жінок репродуктивного віку 27-39 років (контрольна група).

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У результаті проведених досліджень встановлено, що вміст естрадіолу в крові достовірно зменшувався при клімаксі, особливо виражене його зниження було виявлено у жінок із КС. Рівень естрадіолу в жінок із КС (1-ша група) склав у середньому  $(0,195 \pm 0,01)$  нмоль/л, у жінок 2-ї групи –  $(0,262 \pm 0,03)$  нмоль/л, при нормі у жінок репродуктивного віку –  $(0,403 \pm 0,01)$  нмоль/л. Зниження рівня естрадіолу при КС було статистично достовірним порівняно з даним показником як у контролі, так і в жінок 2-ї групи ( $p < 0,01$ ).

Рівень мелатоніну в жінок, які страждали від КС, становив у середньому  $(0,46 \pm 0,02)$  нмоль/л з коливаннями від 0,20 до 0,52 нмоль/л, що достовірно нижче, ніж у жінок 2-ї групи, для яких характерним було деяке підвищення вмісту мелатоніну, середня величина якого склала  $(0,53 \pm 0,02)$  нмоль/л, тоді як у контрольній групі даний показник становив у середньому  $(0,50 \pm 0,04)$  нмоль/л ( $p < 0,05$ ).

Незначне зростання рівня мелатоніну з віком можна розцінювати як адаптаційну реакцію організму на зниження рівня естрогенів. Зменшення вмісту мелатоніну при КС, навпаки, може відобразити виснаження адаптаційних можливостей організму і розвиток дезадаптозу.

Вивчення продуктів перекисного окиснення ліпідів і білків показало, що найбільш значні зміни виявлялися у вмісті малонового діальдегіду (МДА) й окиснених форм білків. Так, рівень МДА склав  $(4,39 \pm 0,37)$  мкмоль/л у жінок

1-ї групи,  $(4,04 \pm 0,41)$  мкмоль/л у жінок 2-ї групи і  $(2,88 \pm 0,31)$  мкмоль/л у жінок репродуктивного віку. Відмінності статистично достовірні ( $p < 0,05$ ). Такі ж зміни з віком відбувалися при перекисному окисненні білків, рівень окиснених форм яких склав у жінок із КС (1-ша група)  $(5,49 \pm 0,75)$  ум.од., у жінок 2-ї групи і в контролі –  $(5,37 \pm 1,08)$  і  $(3,15 \pm 0,2)$  ум. од. відповідно ( $p < 0,05$ ). Стан антиоксидантної системи оцінювали за рівнем токоферолу, ретинолу й активністю каталази. Встановлено, що у жінок, які страждали від КС, активність каталази склала в середньому  $(38,32 \pm 4,56)$  мкат/мл/хв, що було достовірно нижчим, ніж у жінок із фізіологічним перебігом клімаксу –  $(51,0 \pm 2,09)$  мкат/мл/хв і в контрольній групі –  $(49,9 \pm 0,98)$  мкат/мл/хв ( $p < 0,05$ ). Зниженими були і рівні ретинолу і токоферолу, причому найбільш виражене зменшення виявлено у хворих із КС.

Для оцінки стану систем "ПОЛ-АОС" ми використовували інтегральний індекс ПОЛ/АОС. З метою розрахунку даного індексу застосовували формулу:

$ПОЛ/АОС = МДА + ОБ/каталаза + токоферол + ретинол$

Цей показник у контрольній групі склав 0,083, у хворих із КС (1-ша група) він був удвічі вищим і становив 0,17, тоді як у жінок з фізіологічним перебігом клімаксу (2-га група) індекс ПОЛ/АОС дорівнював 0,12. Отримані дані представлено в таблиці 1.

Між рівнем мелатоніну і вмістом продуктів перекисного окиснення ліпідів та білків (МДА і карбонілованих білків) виявлено негативний кореляційний зв'язок середньої сили ( $r = -0,54$ ;  $p < 0,05$ ), тоді як між рівнем мелатоніну, вмістом естрадіолу й активністю каталази мав місце такої ж сили позитивний кореляційний зв'язок.

Отримані дані вказують на те, що можливості антиоксидантної системи, що знижуються

Таблиця 1 – Показники рівнів гормонів, продуктів перекисного окиснення ліпідів і білків та антиоксидантів при КС

| Показник                       | Контроль, n=12    | 1-ша група, n=37                                  | 2-га група, n=28                   |
|--------------------------------|-------------------|---|------------------------------------|
| Естрадіол, нмоль/л             | $0,403 \pm 0,012$ | $0,195 \pm 0,016$<br>$p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,05$ | $0,262 \pm 0,030$<br>$p_1 < 0,001$ |
| Мелатонін, мкмоль/л            | $0,50 \pm 0,02$   | $0,46 \pm 0,02$<br>$p_2 < 0,05$                   | $0,53 \pm 0,04$                    |
| Малоновый діальдегід, мкмоль/л | $2,88 \pm 0,30$   | $4,39 \pm 0,37$<br>$p_1 < 0,05$                   | $4,04 \pm 0,41$                    |
| Окиснені білки, ум. од.        | $3,15 \pm 0,2$    | $5,40 \pm 0,75$<br>$p < 0,05$                     | $5,37 \pm 1,08$<br>$p < 0,05$      |
| Каталаза, мкат/мл/хв           | $49,9 \pm 0,98$   | $51,0 \pm 2,09$<br>$p_1 < 0,05$ ; $p_2 < 0,05$    | $38,32 \pm 4,56$<br>$p_1 < 0,05$   |
| Токоферол, мкмоль/л            | $20,0 \pm 0,28$   | $18,9 \pm 0,73$<br>$p_1 < 0,01$                   | $23,7 \pm 2,1$                     |
| Ретинол, мкмоль/л              | $2,52 \pm 0,03$   | $1,89 \pm 0,06$<br>$p_1 < 0,01$                   | $2,15 \pm 0,14$                    |
| ПОЛ/АОС                        | 1,0               | 2,04  | 1,44                               |

Примітка.  $p_1$  – достовірність порівняно з контрольною групою;  $p_2$  – достовірність порівняно з 2-ю групою.

з віком, не достатні для повної нейтралізації утворених продуктів перекисного окиснення білків і ліпідів, це призводить до розвитку і пролонгації "оксидантного стресу", який може зумовлювати системні дезадапційні й дисрегуляційні механізми при КС як форми дисрегуляційної патології.

**ВИСНОВКИ.** 1. При клімактеричному синдромі, у зв'язку з посиленням процесів пере-

кисного окиснення ліпідів і білків на тлі зниження активності антиоксидантної системи, формується "оксидантний стрес".

2. Рівень мелатоніну у хворих із клімактеричним синдромом знижений порівняно з таким у жінок з фізіологічним перебігом клімаксу. Зменшений вміст естрадіолу і мелатоніну підтримує "оксидантний стрес" і сприяє розвитку процесів дисрегуляції, що лежать в основі клімактеричного синдрому.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Арушанян Э.Б., Арушанян Л.Г. Модуляторные свойства эпифизарного мелатонина // Пробл. эндокринол. – 1991. – № 3. – С. 65-68.

2. Бобырев В.Н. Свободнорадикальное окисление в патогенезе заболеваний, сопряженных со старением // Пат.физиол.и экспер.терапия. – 1989. – № 5. – С. 90-94.

3. Дильман В.М. Четыре модели медицины. – Л.: "Медицина", 1987. – 287 с.

4. Крыжановский Г.Н. Дисрегуляционная патология // Пат. физиол. и экспер. терапия. – 2001. – № 1. – С. 2-18.

5. Лушак В.И. Окислительный стресс и механизмы защиты от него // Биохимия. – 2001. – 66, вып.5. – С. 592-609.

## СОСТОЯНИЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И БЕЛКОВ И УРОВЕНЬ МЕЛАТОНИНА У ЖЕНЩИН С КЛИМАКТЕРИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

**Ф.В. Шикаева, Н.С. Луценко, Н.Ф. Ефименко, В.Н. Плотникова, Н.Т. Ивахненко**  
ЗАПОРЖСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ

#### Резюме

Обследованы 67 женщин в возрасте от 42 до 65 лет. Из них 37 страдали климактерическим синдромом, у 28 имело место физиологическое протекание климакса. У всех женщин изучали состояние перекисного окисления липидов и белков, активность антиоксидантной системы и уровень в крови эстрадиола и мелатонина. Установлено, что при климактерическом синдроме на фоне дефицита эстрадиола и мелатонина и угнетения активности антиоксидантной системы интенсивность перекисного окисления липидов и белков существенно повышается по сравнению с физиологическим климаксом, что соответствует "оксидантному стрессу". Пролонгированный "оксидантный стресс" может быть одним из факторов развития дисрегуляционных патологических нарушений при климактерическом синдроме.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** климактерический синдром, перекисное окисление, мелатонин, "оксидантный стресс".

## STATE OF LIPID AND PROTEIN PEROXIDATION AND MELATONINE LEVEL IN WOMEN WITH CLIMACTERIC SYNDROME

**F.V. Shykaeva, N.S. Lutcenko, N.F. Efimenko, V.M. Plotnikova, N.T. Ivachnenko**  
ZAPORIZH ZHIAN MEDICAL ACADEMY OF POST-GRADUATE EDUCATION

#### Summary

65 women aged from 42 to 65 were examined. 37 of them suffered from climacteric syndrome, 28 had physiologic climacteric process. The intensity of lipid and protein peroxidation, antioxidant activity and estradiol and melatonin level in blood were studied. It was determined that at climacteric syndrome with estradiol and melatonin deficit and decrease of antioxidant system activity the intensity of lipid and protein peroxidation increases in comparison with physiologic climax. This fact corresponds to "oxidant stress". The prolonged "oxidant stress" can be the cause of disregulative pathologic disfunctions at climacteric syndrome.

**KEY WORDS:** climacteric syndrome, peroxidation, melatonin, "oxidant stress".

**Адреса для листування:** Ф.В. Шикаева, Запорізька медична академія післядипломної освіти, Запоріжжя, Україна.



## ВПЛИВ ГЛУТАРГІНУ НА СТАН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ УЛЬЦЕРОГЕНЕЗІ У ЩУРІВ

О.А. Пономаренко

ІНСТИТУТ ГАСТРОЕНТЕРОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ

*Вивчено вплив глутаргіну на процеси перекисного окиснення ліпідів та слизоутворювальну функцію шлунка при ерозивно-виразковому ураженні щурів. Установлено гастропротективний ефект глутаргіну при розвитку експериментальної патології, який здійснюється через NO-залежні механізми.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** слизова оболонка шлунка, глікопротеїни, оксид азоту, глутаргін, перекисне окиснення ліпідів.

**ВСТУП.** Сучасний підхід до терапії кислото-залежних захворювань, який базується на пригніченні секреції соляної кислоти з одночасним проведенням ерадикації *Helicobacter pylori*, не завжди приносить бажаний результат. У зв'язку з цим, здійснюється активний пошук препаратів, які проявляють гастропротективну дію внаслідок підвищення кровотоку, нормалізації прооксидантно-антиоксидантного статусу в слизовій оболонці (СО), покращання показників слизоутворення.

Увага, яку викликав до себе оксид азоту (NO) за останні десятиріччя, не обійшла стороною і гастроентерологів. Було встановлено, що NO можна розглядати як нейротрансмітер, що стимулює розслаблення гладеньких м'язів стравоходу, шлунка (Ш), кишечнику, жовчного міхура, сфінктера Одді. Значний інтерес викликала здатність NO проявляти гастропротективну дію. Було доведено кооперативну взаємодію простагландинів та NO в підтримці цілісності слизової оболонки шлунка (СОШ) [2, 4]. Разом із тим, серед значної кількості вільних радикалів, накопиченням яких супроводжуються патологічні процеси, на першому місці за біохімічною активністю стоїть NO. Оксид азоту, зв'язуючись з активними формами кисню, утворює надзвичайно токсичну сполуку – пероксинітрит. Останній за токсичністю в декілька разів перевищує NO та відіграє значну роль у багатьох патофізіологічних процесах, що перебігають з активацією вільнорадикальних процесів та накопиченням вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Але також

© О.А.Пономаренко, 2006.

було доведено, що пероксинітрит посідає одну з ключових позицій у біосинтезі простагландинів [5]. Тому дефіцит або збільшення рівня NO відіграє велику роль у цитопротекції при виразковому ураженні шлунково-кишкового тракту (ШКТ).

Метою дослідження було вивчення впливу глутаргіну (L-аргінін-L-глутамат) (Гл) на процеси ПОЛ та слизоутворювальну функцію Ш при експериментальному ерозивно-виразковому ураженні (ЕВУ) щурів.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження проведено на 40 безпородних білих щурах-самцях масою 250-280 г. Тварин було поділено на 4 групи. До 1-ї (контрольної) групи (n=10) ввійшли інтактні щури, яким внутрішньочеревно вводили 0,9 % розчин натрію хлориду. Щурам 2-ї групи (n=10) моделювали ЕВУ шлунка. Тваринам інтрогастрально вводили медичну жовч та піддавали іммобілізаційно-холодовому впливу протягом 1 год при температурі +4 °С впродовж 7 діб. Щури 3-ї групи (n=10) одночасно з моделюванням ЕВУ отримували внутрішньочеревно 4 % розчин Гл у дозі 20 мг/100 г маси тіла. 4-ту групу (n=10) склали тварини з ЕВУ, яким одночасно з Гл вводили неспецифічний блокатор NO-синтази L-NAME в дозі 1 мг/100 г. Дослідження виконували згідно з вимогами, які передбачені Європейською комісією з нагляду за проведенням лабораторних та інших досліджень за участю експериментальних тварин. По закінченні експерименту евтаназію здійснювали під кетаміновим наркозом (1 мг/100 г) шляхом

декапітації. Процеси ПОЛ оцінювали за рівнем ТБК-активних продуктів (ТБАП) у тканині Ш [5]. У шлунковому вмісті визначали рівень фукози (Ф), сіалових кислот (СК), гексозамінів (Гам) та загальних глікопротеїнів (ЗГ) [1, 3]. Результати досліджень оброблено методом варіаційної статистики.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Аналіз отриманих результатів свідчить про те, що моделювання ЕВУ в щурів 2-ї групи супроводжувалось збільшенням кількості ТБАП у тканині Ш в 2 рази ( $p < 0,05$ ) відносно показників контрольної групи. Також спостерігалось зменшення кількості ЗГ в 1,4 рази ( $p < 0,05$ ) з одночасною зміною якісного складу шлунко-

вого слизу. Так, рівень СК збільшувався в 2 рази ( $p < 0,05$ ), а вміст Ф та Гам був зменшений в 1,3 і 1,9 рази відповідно ( $p < 0,05$ ) (табл. 1).

При введенні Гл з гастропротективною метою у щурів 3-ї групи відмічалось зниження кількості ТБАП у стінці Ш на 30 %. Показники моносахаридів слизу у тварин 3-ї групи майже не відрізнялись від аналогічних у контрольній групі. Застосування неспецифічного блокатора NO-синтази – L-NAME на тлі введення Гл при моделюванні ЕВУ викликало значну інтенсифікацію вільнорадикальних процесів і накопичення ТБАП у тканині Ш в 1,37 рази ( $p < 0,05$ ) відносно показників 3-ї групи. Дані процеси супроводжувались зменшенням рівня ЗГ і Гам в 1,28 та 2 рази ( $p < 0,05$ ) відповідно.

Таблиця 1 – Стан біохімічних показників слизової оболонки шлунка експериментальних тварин

| Експериментальні групи | ТБАП, нмоль/г тканини | Загальні гліко-протеїни, мг/мл | Фукоза, ммоль/л | Сіалові кислоти, ммоль/л | Гексозаміни, ммоль/л |
|------------------------|-----------------------|--------------------------------|-----------------|--------------------------|----------------------|
| 1-ша (n=10)            | 4,46±0,39             | 0,81±0,07                      | 8,59±0,49       | 1,1±0,05                 | 10,79±0,76           |
| 2-га (n=10)            | 8,96±0,96*            | 0,58±0,03*                     | 6,8±0,47*       | 2,33±0,19*               | 5,68±0,35*           |
| 3-тя (n=10)            | 6,39±0,67             | 0,77±0,04**                    | 8,88±0,25**     | 1,48±0,14**              | 6,93±0,39**          |
| 4-та (n=10)            | 8,75±0,47^            | 0,6±0,06^                      | 7,59±0,55       | 1,18±0,08                | 3,16±0,35^           |

Примітка. \* – вірогідність розходжень між показниками 1-ї та 2-ї груп ( $p < 0,05$ );

\*\* – вірогідність розходжень між показниками 2-ї та 3-ї груп ( $p < 0,05$ );

^ – вірогідність розходжень між показниками 3-ї та 4-ї груп ( $p < 0,05$ ).

Проведені дослідження показали, що інтероцептивне подразнення та іммобілізаційно-холодове стресування викликало у щурів активацію процесів ПОЛ у тканині Ш, зміну якісного складу полімерних структур слизового гелю, що сприяло розвитку деструктивних змін СОШ. Застосування Гл призводило до покращання як показників ПОЛ, так і захисних компонентів шлункового слизу в тварин при моделюванні ЕВУ Ш. Той факт, що фармакологічний ефект Гл здійснювався через NO-залежні механізми, був підтверджений введенням неселективного блокатора NO-синтази – L-NAME. Так, різке зниження біосинтезу вугле-

водних компонентів слизу та активація вільнорадикальних процесів на тлі ін'єкцій Гл та L-NAME свідчать про нівелювання дії Гл.

**ВИСНОВКИ.** 1. Моделювання ерозивно-виразкових уражень слизової оболонки шлунка супроводжується активацією процесів перекисного окиснення ліпідів та виникненням дефіциту слизу, диспропорцією його вуглеводних компонентів.

2. Застосування глутаргіну з гастропротективною метою призвело до покращання показників слизоутворення та вільнорадикальних реакцій у шлунку.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Біохімічні та біофізичні методи оцінки порушень окислювального гомеостазу в осіб, що зазнали радіаційного впливу внаслідок аварії на ЧАЕС: Методичні рекомендації. – К., 1999. – 25 с.
2. Лазебник Л.Б., Дроздов В.Н., Барышников Е.Н. Роль оксида азота (NO) в етиопатогенезе некоторых заболеваний органов пищеварения // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2005. – № 2. – С. 4-10.
3. Методы биохимических исследований / Под ред. М.И. Покровской. – Л.: Ленинградский ун-т,

1982. – 272 с.

4. Corfield A.P., Myerscough N., Longman R., Sylvester P. et al. Mucins and mucosal protection in the gastrointestinal tract: new prospects for mucins in the pathology of gastrointestinal disease // Gut. – 2000. – 47, № 4. – P. 589-594.

5. Goodwin D.C., Landino L.M., Marnett L.J. Effects of nitric oxide and nitric oxide-derived species on prostaglandin endoperoxide synthase and prostaglandin biosynthesis // The FASEB Journal. – 1999. – 13, № 10. – P. 1121-1136.

## ВЛИЯНИЕ ГЛУТАРГИНА НА СОСТОЯНИЕ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ УЛЬЦЕРОГЕНЕЗЕ У КРЫС

А.А. Пономаренко

ИНСТИТУТ ГАСТРОЭНТЕРОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ

### Резюме

Изучено влияние глутаргина на процессы перекисного окисления липидов и слизиобразующую функцию желудка при эрозивно-язвенном поражении крыс. Установлен гастропротективный эффект глутаргина при развитии экспериментальной патологии, осуществляемый через NO-зависимые механизмы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **слизистая оболочка желудка, гликопротеины, оксид азота, глутаргин, перекисное окисление липидов.**

## INFLUENCE OF GLUTARGIN ON THE GASTRIC MUCOSA CONDITION IN RATS WITH EXPERIMENTAL PEPTIC ULCER

O.A. Ponomarenko

INSTITUTE OF GASTROENTEROLOGY OF ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES OF UKRAINE

### Summary

The influence of glutargin on lipid peroxidation processes and mucus secretion of rat stomach under experimental gastric ulceration has been studied. The study established the gastroprotective effect of glutargin under development of experimental pathology through the NO-dependent mechanisms.

KEY WORDS: **gastric mucosa, glycoproteins, nitric oxide, glutargin, lipid peroxidation.**

Адреса для листування: О.А. Пономаренко, Інститут гастроентерології АМН України, лабораторія патофізіології, пр. ім. газ. "Правда", 96, Дніпропетровськ, 49074, Україна.

## СТАН АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ТВАРИН З ПАТОЛОГІЄЮ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЇ ЗОНИ ПРИ ПОЄДНАНІЙ ДІЇ ГЛУТАРГІНУ ТА МАГНІТНОГО ПОЛЯ

Л.А. Пономаренко<sup>1</sup>, О.А. Лихолат<sup>2</sup>, О.А. Пономаренко<sup>1</sup>, А.І. Руденко<sup>1</sup>, О.М. Хоменко<sup>3</sup>

ІНСТИТУТ ГАСТРОЕНТЕРОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ<sup>1</sup>

УКРДЕРЖНДІМСПІ<sup>2</sup>, ДНІПРОПЕТРОВСЬК,

ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ<sup>3</sup>

*Встановлено посилення процесів переокиснення ліпідів та зміни показників системи глутатіону в головному мозку щурів за розвитку ерозивно-виразкової патології в гастродуоденальній зоні, особливості реагування нейрональних прооксидантно-антиоксидантних систем при поєднанні фармакологічної корекції та впливу вихрового імпульсного магнітного поля.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** патологія гастродуоденальної зони, головний мозок, перекисне окиснення ліпідів, система глутатіону, глутаргін, вихрове імпульсне магнітне поле.

**ВСТУП.** Відомо, що формування ерозивно-виразкової патології (ЕВП) в гастродуоденальній зоні (ГДЗ) відбувається під впливом таких агресивних факторів, як гелікобактерна інфекція, надлишок соляної кислоти, пепсину, наявність у шлунковому вмісті жовчі. У свою чергу, зазначені фактори агресії призводять до надмірного подразнення вісцерорецепторів шлунково-кишкового тракту, що супроводжується зміною активності структур головного мозку (ГМ), які пов'язані зі сприйняттям та переробкою цих сигналів. Значна інтенсифікація процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у структурах ГМ за стресових ситуацій спричиняє порушення структурно-функціональної організації нейрональних мембран і, як наслідок, зміни регуляторних впливів на ефекторні органи, що призводить до погіршення соматичної патології [5].

Корекція даних процесів можлива засобами, яким притаманні виражені антиоксидантні властивості. До таких препаратів належить глутаргін (сіль L-аргініну та глутамінової кислоти), що поєднує антиперекисні, детоксикуючі та ноотропні ефекти [1]. Поряд із фармакотерапією в сучасній гастроентерологічній практиці все частіше використовують вплив низькоінтенсивних магнітних полів (МП) [4]. Разом із тим, механізми дії експозиції МП на

© Л.А. Пономаренко, О.А. Лихолат, О.А. Пономаренко, А.І. Руденко, О.М. Хоменко, 2006.

тлі фармакокорекції на компенсаторно-адаптивні нейрональні структури визначено недостатньо.

Метою роботи було дослідити стан системи антиоксидантного захисту в тканині ГМ щурів з ЕВП ГДЗ під впливом глутаргину (Гл) та вихрового імпульсного магнітного поля (ВІМП).

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження проводили на 25 білих безпородних щурах-самцях масою 200-250 г. Ерозивно-виразкові ураження (ЕВУ) ГДЗ моделювали шляхом інтрагастрального введення медичної жовчі (1 мл/100 г) впродовж 7 діб. Тварин було розподілено на 4 групи. 1-шу (контрольну) групу склали щури, яким внутрішньошлунково через зонд вводили 0,9 % розчин NaCl; 2-гу – тварини з ЕВУ ГДЗ; 3-тю – щури, які одночасно з моделюванням патологічного стану отримували внутрішньочеревно ін'єкції Гл (20 мг/100 г), 4-ту – щури з ЕВУ ГДЗ, яким паралельно з ін'єкціями Гл на ділянку черевної зони діяли ВІМП з частотою 80 Гц, напругою 5 мТл, терміном експозиції 5 хв. Роботу з лабораторними тваринами проводили згідно з правилами "Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших дослідних цілях". Щурів виводили з експерименту шляхом декапітації під кетаміновим наркозом, у гомогенатах ГМ досліджували: ТБК-активні продукти (ТБКАП) [2], вміст

відновленого глутатіону (ВГ) [3], активність каталази (Кат), глутатіон-редуктази (ГР) [2], супероксиддисмутази (СОД) [6], глутатіон-пероксидази (ГПО) [7]. Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Встановлено, що інтрагастральне введення медичної жовчі супроводжувалось зниженням антиоксидантної активності у тканині ГМ щурів порівняно з показниками контрольної групи. Так, на тлі активації СОД у 2,3 раза спостерігалось інгібування ензимів антиперекисного захисту: Кат – в 1,5 ( $p < 0,05$ ) та ГПО – в 1,9 раза ( $p < 0,05$ ). Зниження активності ГПО пов'язане з виснаженням пулу ВГ на 50 %, що, в свою чергу, є результатом інактивації ГР в 1,3 раза. Надлишок  $H_2O_2$ , утвореного внаслідок посиленої роботи СОД, проявляв цитотоксичний вплив на нейромембрани, що призвело до інтенсифікації процесів ПОЛ, збільшення рівня ТБКАП у 2 рази (табл. 1).

Ін'єкції Гл сприяли подальшій активації СОД на 26 % порівняно з показниками тварин 2-ї

групи. При цьому активність Кат мала тенденцію до зменшення, складові системи глутатіону були активовані незначною мірою. Вміст ТБКАП знижувався на 15 %.

Комбінований вплив глутаргіну та ВІМП призводив до нормалізації рівня ВГ, Кат, активації ГПО та СОД і, як наслідок, до подальшого зниження концентрації ТБКАП.

Можна припустити, що стабілізація стану антиоксидантної системи глутатіону в головному мозку тварин з модельованою гастродуоденальною патологією за впливу глутаргіну пов'язана з властивостями амінокислот, що входять до його складу, та їх метаболітів. Протекторна дія ВІМП визначається його впливом на металозалежні антиоксидантні ензими.

Таким чином, у результаті проведених досліджень встановлено, що комбіноване застосування глутаргіну та ВІМП є перспективним у сенсі нормалізації антиоксидантного статусу тканини головного мозку, який дестабілізований за розвитку гастродуоденальної патології.

Таблиця 1 – Стан ПОЛ та системи глутатіону в щурів з ЕВП за впливу Гл та ВІМП ( $M \pm m$ )

| Групи      | ТБКАП, нмоль/г тканини | Кат, ммоль $H_2O_2$ /хв·г тканини | СОД, ум.од. | ВГ, ммоль/г тканини | ГПО, ммоль/хв·г тканини | ГР, мкмоль НАДН/хв·г тканини |
|------------|------------------------|-----------------------------------|-------------|---------------------|-------------------------|------------------------------|
| 1-ша (n=7) | 1,64±0,07              | 89,0±6,1                          | 0,41±0,03   | 1,14±0,04           | 11,05±0,65              | 0,05±0,001                   |
| 2-га (n=6) | 4,07±0,4*              | 59,33±6,47*                       | 0,96±0,14   | 0,59±0,03*          | 5,73±1,03*              | 0,037±0,001*                 |
| 3-тя (n=6) | 3,4±0,36               | 48,03±5,65                        | 1,21±0,05   | 0,63±0,012          | 6,2±0,29                | 0,04±0,001                   |
| 4-та (n=6) | 3,07±0,11^             | 84,05±2,97^                       | 1,61±0,17^  | 1,13±0,04^          | 7,21±0,79               | 0,041±0,0002                 |

Примітка. \* – вірогідність розходжень між показниками 1-ї та 2-ї груп ( $p < 0,05$ );

^ – вірогідність розходжень між показниками 2-ї та 4-ї груп ( $p < 0,05$ ).

**ВИСНОВКИ.** 1. За розвитку ерозивно-виразкової патології в гастродуоденальній зоні відбувається посилення вільнорадикальних процесів на тлі значного зниження антиоксидантного потенціалу в тканині головного мозку щурів.

2. Внутрішньочеревні ін'єкції глутаргіну призводили до статистично вірогідної інгібіції

процесів переокиснення ліпідів за одночасної активації антиоксидантної системи глутатіону.

3. Експозиція експериментальних тварин ВІМП при застосуванні фармакологічної корекції сприяло подальшому зниженню вмісту продуктів пероксидації, зростанню активності антиоксидантних ензимів і нормалізації рівня відновленого глутатіону в мозковій тканині.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Бабак О.Я., Фролов В.М., Харченко Н.В. Глутаргин – фармакологическое действие и клиническое применение. – Харьков-Луганск: Элтон-2, 2005. – 456 с.

2. Біохімічні та біофізичні методи оцінки порушень окислювального гомеостазу в осіб, що

зазнали радіаційного впливу внаслідок аварії на ЧАЕС: Методичні рекомендації. – К., 1999. – 25 с.

3. Горячковский А.М. Клиническая биохимия. – О.: Астропринт, 1998. – 608 с.

4. Лыков А.А. Магнитотерапия в комплексном лечении язвенной болезни // Вестник физиотерапии

и курортологии. – 2004. – № 3. – С. 54-56.

5. Мицкан Б.М., Султанова І.Д. Вплив інтероцептивного подразнення на вміст гангліозидів та інтенсивність пероксидної оксидації ліпідів у мозочку // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. – 2003. – № 2. – С. 7-10.

6. Переслегина И.А. Активность антиоксидантных ферментов слюны у здоровых детей // Лаб. дело. – 1989. – № 11. – С. 20-23.

7. Olinescu R., Nita S. Influence of hemoproteins on glutathion peroxidase activity // Rev. Roum. Biochem. – 1973. – 247. – P. 3100-3107.

## СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ЖИВОТНЫХ С ПАТОЛОГИЕЙ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЙ ЗОНЫ ПРИ СОЧЕТАННОМ ДЕЙСТВИИ ГЛУТАРГИНА И МАГНИТНОГО ПОЛЯ

Л.А. Пономаренко<sup>1</sup>, Е.А. Лихолат<sup>2</sup>, А.А. Пономаренко<sup>1</sup>, А.И. Руденко<sup>1</sup>, О.Н. Хоменко<sup>3</sup>  
ИНСТИТУТ ГАСТРОЭНТЕРОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ<sup>1</sup>  
УКРГОСНИИМСПИ<sup>2</sup>, ДНЕПРОПЕТРОВСК  
ДНЕПРОПЕТРОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ<sup>3</sup>

### Резюме

Установлено усиление процессов переокисления липидов и изменения показателей системы глутатиона в головном мозге крыс при развитии эрозивно-язвенной патологии в гастродуоденальной зоне, особенности реагирования нейрональных прооксидантно-антиоксидантных систем при сочетании фармакологической коррекции и влияния вихревого импульсного магнитного поля.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: патология гастродуоденальной зоны, головной мозг, перекисное окисление липидов, система глутатиона, глутаргин, вихревое импульсное магнитное поле.

## ANTIOXIDANT PROTECTION STATE IN ANIMALS WITH GASTRODUODENAL PATHOLOGY AT COMBINED ACTION OF GLUTARGIN AND MAGNETIC FIELD

L.A. Ponomarenko<sup>1</sup>, E.A. Lykholat<sup>2</sup>, O.A. Ponomarenko<sup>1</sup>, A.I. Rudenko<sup>1</sup>, O.M. Khomenko<sup>3</sup>  
INSTITUTE OF GASTROENTEROLOGY OF ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES OF UKRAINE<sup>1</sup>  
UKRAINIAN STATE INSTITUTE OF MEDICAL-SOCIAL PROBLEMS OF DISABILITY<sup>2</sup>  
DNIPROPETROVSK NATIONAL UNIVERSITY<sup>3</sup>

### Summary

Strengthening of lipid peroxidation processes and changes of parameters of glutathione system in rat brain at development of erosive-ulcer pathology in gastroduodenal zone, features of neuronal prooxidant-antioxidant systems at combination of pharmacological correction and influence of vortical pulse magnetic field is established.

KEY WORDS: **gastroduodenal pathology, brain, lipid peroxidation, glutathione system, glutargin, vortical pulse magnetic field.**

Адреса для листування: Л.А. Пономаренко, Інститут гастроентерології АМН України, пр. ім. газ. "Правда", 96, Дніпропетровськ, 49074, Україна.

## ЗМІНИ ПРОЦЕСІВ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ ТА АКТИВНОСТІ ЕНЗИМІВ СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ПРИ ВВЕДЕННІ ОЛІЇ АМАРАНТУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ВИРАЗКОВОГО КОЛІТУ

О.Я. Склярів, Н.Б. Ковалик

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

*У регуляції процесів антиоксидантного захисту важливе місце займають ненасичені жирні кислоти ( $\omega$ -3,  $\omega$ -6 і  $\omega$ -9). В експериментах на щурах показано, що при введенні олії амаранту, яка містить широкий спектр ненасичених жирних кислот, відзначаються незначні зміни процесів ліпопероксидації, вмісту NO та активності ензимів антиоксидантного захисту (супероксиддисмутази, каталази) у слизовій оболонці товстої кишки. При введенні олії амаранту на фоні виразкового коліту спостерігались зростання процесів цитопротекції, зниження процесів ліпопероксидації, вмісту NO, активності супероксиддисмутази та каталази. Цитопротекторний вплив олії амаранту зумовлений наявністю в її складі ненасичених жирних кислот та її впливом на рівень ненасичених жирних кислот у крові.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** виразковий коліт, процеси ліпопероксидації, олія амаранту, ненасичені жирні кислоти.

**ВСТУП.** Розвиток виразкового коліту супроводжується зростанням процесів ліпопероксидації, активацією експресії індукцибельної NO-синтази та продукцією NO, підвищенням активності мієлопероксидази, глутатіонової пероксидази, глутатіон-S-трансферази, зниженням активності супероксиддисмутази та каталази [12, 14, 15].

Одним із напрямків корекції та лікування виразкового коліту є застосування дієт з включенням олій рослинного походження (оливкова, соняшникова, лляна, соєва) та рибопродуктів, що містять значну кількість  $\omega$ -3 і  $\omega$ -6 поліненасичених кислот (ліноленова, ейкозапентаєнова, докозагексаєнова, лінолева) та  $\omega$ -9 мононенасичену жирну кислоту (олеїнова). Підвищене вживання продуктів, що містять  $\omega$ -3,  $\omega$ -6 і  $\omega$ -9 жирних кислот, призводить до покращання перебігу багатьох патологічних процесів, у тому числі виразкових пошкоджень товстої кишки [11, 13, 19].

Серед олій рослинного походження чинне місце займає олія амаранту, яка містить широкий спектр жирних кислот і проявляє цитопротекторну дію при виразкових пошкодженнях шлунка та товстої кишки [3, 4, 21].

Метою роботи було вивчення процесів ліпопероксидації, активності ферментів антиоксидантного захисту (супероксиддисмутаза,

каталаза), вмісту NO у слизовій оболонці товстої кишки (СОТК) та сироватці крові, а також вмісту жирних кислот за умов ульцерогенного пошкодження слизової оболонки товстої кишки та дії олії амаранту.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження проведено на 35 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-250 г. Їх утримували на стандартному раціоні віварію. Експерименти виконано згідно з міжнародними умовами роботи з піддослідними тваринами. Було проведено 3 серії досліджень: у 1-й серії щурам моделювали ульцерогенні пошкодження товстої кишки шляхом перектального введення 4 % оцтової кислоти [10, 17, 18]; тваринам 2-ї групи протягом 3 днів перорально вводили олію амаранту з розрахунку 0,2 мл на 100 г маси [4]; у тварин 3-ї групи після введення олії амаранту протягом 3 днів визначали характер ульцерогенних змін, застосовуючи оцтову кислоту.

У СОТК та сироватці крові процеси ліпопероксидації оцінювали за вмістом продуктів тіобарбітурової кислоти [7], визначали активність супероксиддисмутази (СОД) [2], каталази [1], а також вміст NO, використовуючи реактив Гриса [6].

Жирні кислоти ліпідів крові виділяли за методом Фолча й ідентифікували газохроматографічним методом [5] шляхом порівнювання

із стандартами кислот ("Sigma"). Визначення жирних кислот проводили методом нормування шляхом вимірювання площі піків метилових похідних жирних кислот і підраховували їх вміст у відсотках.

Морфологічні зміни у СOTК при застосуванні оцтової кислоти оцінювали макроскопічно на основі шкали Fitzpatrick [10]. Для досліджень було використано олію амаранту (ООО НКП "АМАРАНТ ПЛЮС", Одеса).

Результати оброблено методом варіаційної статистики з визначенням t-критерію Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Введення олії амаранту в дозі 0,2 мл на 100 г маси протягом 3 днів суттєво не змінювало активність процесів ліпопероксидації у СOTК та сироватці крові порівняно з інтактними тваринами. Вміст NO у СOTК мав тенденцію до зростання. Активність СОД та каталази була дещо меншою, ніж в інтактних тварин. Вміст поліненасичених жирних кислот (лінолевої, арахідонової) у крові збільшувався на 15-34 %, вміст ненасичених жирних кислот (олеїнової, лінолевої, арахідонової) у плазмі крові зростав на 13 % порівняно з інтактними щурами. Найбільш вираженим було підвищення рівня лінолевої кислоти – на 52 % ( $p < 0,05$ ).

Коефіцієнт співвідношення ненасичених жирних кислот до насичених при введенні олії амаранту становив 1,0, в інтактних – 0,87.

При дії оцтової кислоти спостерігалось формування виражених структурно-геморагічних пошкоджень СOTК у вигляді точкових крововиливів, ерозій, виразок, некротичних змін, у середньому на протязі 2-5 см слизової кишки, оцінених за шкалою Fitzpatrick від 5 до 9 балів. При цьому процеси ліпопероксидації різко зростали як у СOTК (на 45 %,  $p < 0,05$ ), так і в крові (на 22 %), підвищувався вміст NO ( $p < 0,05$ ), незначно збільшувалась активність СОД та каталази. Отже, неспецифічне виразкове пошкодження СOTК 4 % оцтовою кислотою проявляється характерними макроскопічними змінами структури СOTК та процесів ліпопероксидації – підвищуються вміст МДА й активність і-NOS, внаслідок чого збільшується концентрація NO і дещо зростає активність ферментів антиоксидантного захисту.

На фоні попереднього введення олії амаранту відзначалось зменшення площі пошкоджень СOTК – на поверхні слизової оболонки були відсутні некротичні зміни, виразки, ерозії; спостерігались лише поодинокі точкові крововиливи на фоні гіперемійованої слизової або повна відсутність будь-яких макроскопічних

ознак коліту, що за шкалою Fitzpatrick оцінюється в 0-3 бали (рис. 1).

Вміст продуктів тіобарбітурової кислоти знижувався на 25 % у СOTК ( $p < 0,05$ ) та на 40 % у крові ( $p < 0,05$ ). Одночасно зі зниженням процесів ліпопероксидації проявлялась тенденція до зменшення вмісту NO. Активність СОД та каталази зменшувалась порівняно із відповідними показниками при ульцерогенному коліті.

Введення олії амаранту на фоні ульцерогенного коліту, порівняно з впливом однієї олії, призводило до збільшення вмісту насичених жирних кислот, при цьому зменшувався вміст ненасичених та поліненасичених жирних кислот.

Отже, введення олії амаранту призводить до зростання протективних процесів у СOTК, що проявляється підтриманням цілісності СOTК, зниженням процесів ПОЛ, вмісту NO та активності СОД і каталази.

Олія амаранту містить значну кількість ненасичених жирних кислот (пальмітинової – 23 %, пальмітолеїнової – 0,18 %, стеаринової – 1,3 %, олеїнової – 22,6 %, лінолевої – 52,4 %, лінолевої – 0,39 %) [4]. Жирні кислоти, які містяться в оліях рослинного походження, є джерелом для біосинтезу в організмі ейкозаноїдів – простагландинів та лейкотрієнів [9, 20]. У попередніх дослідженнях показано, що процеси ліпопероксидації у тварин, які вживали олію з великим вмістом лінолевої кислоти та різними дозами вітаміну Е, були вищими, ніж при вживанні дієти із збільшеним вмістом соєвої олії, вміст лейкотрієну В4 та лейкотрієну С4 в СOTК за цих умов був нижчим [20]. При

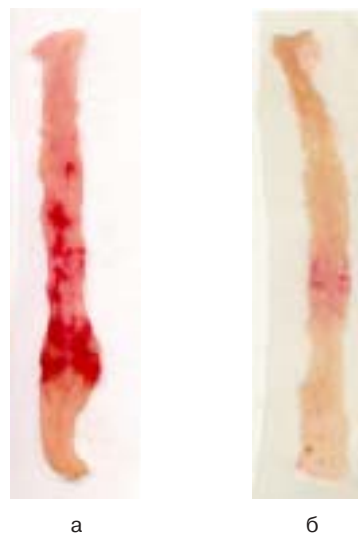


Рис. 1. Морфологічні зміни СOTК при ульцерогенних пошкодженнях, викликаних оцтовою кислотою (а), та при введенні оцтової кислоти на фоні олії амаранту (б).



вживанні протягом 1-2 тижнів дієти, збагаченої оливковою олією або риб'ячим жиром, ульцерогенні пошкодження СОТК зменшувались. При цьому вміст мононенасичених жирних кислот у плазмі крові тварин з ульцерогенним колітом, які вживали оливкову олію, був вищим порівняно з щурами, які вживали риб'ячий жир, що свідчить про їх роль у забезпеченні цитопротективних ефектів [16]. Введення різних співвідношень коротколанцюгових ненасичених жирних кислот на фоні виразкового коліту, викликаного оцтовою кислотою, призводило до зниження концентрації прозапальних медіаторів [8].

Таким чином, отримані нами результати та дані літератури свідчать про те, що олії рослинного походження (оливкова, кукурудзяна, амарантова) і риб'ячий жир проявляють анти-

оксидантний вплив на фоні неспецифічного виразкового коліту, який супроводжується зниженням процесів ПОЛ та вмісту NO, зростанням біосинтезу простагландинів та зменшенням вмісту прозапальних цитокінів. Олія амаранту може зайняти чинне місце при корекції виразкових пошкоджень слизової оболонки органів травної системи.

**ВИСНОВКИ.** 1. Олія амаранту проявляє виражену цитопротекторну дію на фоні експериментального коліту, що супроводжується зменшенням процесів ліпопероксидації.

2. Введення олії амаранту інтактним тваринам та на фоні ульцерогенного коліту призводить до зміни вмісту ненасичених жирних кислот крові, що може бути одним із факторів її протективної дії.

#### ЛІТЕРАТУРА

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

2. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева И.В. Простой и чувствительный метод определения активности СОД // Вопросы медицинской химии. – 1990. – № 2. – С. 88-91.

3. Скляр О.Я., Ковалик Н.Б. Цитопротекторна дія олії амаранту за умов експериментального неспецифічного виразкового коліту // Практична медицина. – 2005. – № 3. – С. 67-71.

4. Скляр О.Я., Косий Є.Р., Скляр В.О. та ін. Зміни йонного балансу в органах травної системи при стресі і при застосуванні олії з амаранту // Експер. та клінічна фізіологія та біохімія. – 1997. – № 2. – С. 30-32.

5. Скляр О.Я. та ін. Жирнокислотний спектр і стан про- та антиоксидантної систем сироватки крові у хворих на рак легень // Мед. хімія. – 2001. – № 2. – С. 17-20.

6. Скляр О.Я., Федорович І.П., Фартушок Н.В. Визначення нітрит-аніону в слині, як специфічного маркера перебігу запального процесу. Інформаційний лист. Укрмедпатентінформ МОЗ України, 118, 5, 2004.

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

8. Campos F.G., Waitzberg D.L., Logulo AF et al. Immunonutrition in experimental colitis: beneficial effects of omega-3-fatty acids // Arch. Gastroenterol. – 2002. – **39**, № 1. – P. 48-54.

9. Cargile J.L., Burrow J.A., Cim I. et al. Effect of dietary corn oil supplementation on equine gastric fluid

acid, sodium, and prostaglandin E2 content before and during pentagastrin infusion // J. Vet. Intern. Med. – 2004. – **18**, № 4. – P. 545-549.

10. Fabia R., Willen R., Ar'Rajab A. et al. Acetic acid-induced colitis in the rat: a reproducible experimental model for acute ulcerative colitis // Eur. Surg. Res. – 1992. – **24**, № 4. – P. 211-225.

11. Ganda R., Bell J.G., Montero D. et al. Effect of dietary lipids on plasma fatty acid profiles and prostaglandin and leptin production in gilthead seabream (*Sparus aurata*) // Comp. Biochem. Physiol. Biochem. Mol. Biol. – 2005. – **142**, № 4. – P. 410-418.

12. Korkina L., Suprun M., Petrova A. et al. The protective and healing effects of a natural antioxidant formulation based on ubiquinol and Aloe vera against dextran sulfate-induced ulcerative colitis in rats // Biofactors. – 2003. – **18**, № 1-4. – P. 255-264.

13. Kuda T., Enomoto T., Yano T. et al. Cecal environment and TBARS level in mice fed corn oil, beef tallow and menhaden fish oil // J. Nutr. Sci. Vitaminol. – 2000. – **46**, № 2. – P. 65-70.

14. Mei Q., Xu J-M., Xiang L. et al. Change of nitric oxide in experimental colitis and its inhibition by melatonin in vivo and in vitro // Postgraduate Medical Journal. – 2005. – **81**. – P. 667-672.

15. Middleton S.J., Shorthouse M., Hunter J.O. Increased nitric oxide synthesis in ulcerative colitis // Lancet. – 1993. – **341**. – P. 465-466.

16. Nieto N., Torres M.I., Rios A. et al. Dietary polyunsaturated fatty acids improve histological and biochemical alterations in rats with experimental ulcerative colitis // J. Nutr. – 2002. – **132**, № 1. – P.11-19.

17. Okabe S., Amagase K. An overview of acetic acid ulcer models – the history and state of the art of peptic ulcer research // Biol. Pharm. Bull. – 2005. – **28**, № 8. – P.1321-1341.

18. Pelissier M.A., Bourdet N., Marques-Dossou F. et al. Palm versus soybean oil intestinal recovery from malnutrition in Guinea pigs // *Pediatr. Res.* – 2002. – **52**, № 1. – P. 119-124.

19. Quiles J.L., Huertas J.R., Battino M. et al. The intake of fried virgin olive or sunflower oils differentially induces oxidative stress in rat liver microsomes // *Br. J. Nutr.* – 2002. – **88**. – P. 57-65.

20. Shimizu T., Igarashi J., Ohtuka Y. et al. Effects of n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E on colonic mucosal leukotriene generation, lipid peroxidation, and microcirculation in rats with experimental colitis // *Digestion.* – 2001. – **63**, № 1. – P. 49-54.

21. Zayachkivska O.S., Konturek S.J., Drozdowicz D. et al. Gastroprotective effects of flavonoids in plant extracts // *J. Physiol. Pharmacol.* – 2005. – **56**, № 1. – P. 219-231.

## ИЗМЕНЕНИЯ ПРОЦЕССОВ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ И АКТИВНОСТИ ЭНЗИМОВ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ПРИ ВВЕДЕНИИ АМАРАНТОВОГО МАСЛА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЯЗВЕННОГО КОЛИТА

О.Я. Скляр, Н.Б. Ковальк

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

### Резюме

В регуляции процессов антиоксидантной защиты важное место занимают ненасыщенные жирные кислоты ( $\omega$ -3,  $\omega$ -6 и  $\omega$ -9). В экспериментах на крысах показано, что при введении амарантового масла, которое содержит широкий спектр ненасыщенных жирных кислот, отмечены незначительные изменения процессов липопероксидации, содержания NO и активности энзимов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутаза, каталаза) в слизистой оболочке толстой кишки. При введении амарантового масла на фоне язвенного колита наблюдались возрастание процессов цитопротекции, снижение процессов липопероксидации, содержания NO, активности супероксиддисмутаза и каталазы. Цитопротекторное действие амарантового масла обусловлено наличием в его составе ненасыщенных жирных кислот и его влиянием на уровень ненасыщенных жирных кислот в крови.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: язвенный колит, процессы липопероксидации, амарантовое масло, ненасыщенные жирные кислоты.

## CHANGES OF LIPOPEROXIDATION PROCESSES AND ACTIVITY OF ANTIOXIDANT PROTECTION ENZYMES DUE AT AMARANTH OIL INTRODUCTION AGAINST THE BACKGROUND OF EXPERIMENTAL ULCEROGENIC COLITIS

O.Ya. Sklyarov, N.B. Kovalyk

LIVV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY

### Summary

In the regulation of antioxidant protection enzymes activity processes important place take unsaturated fatty acids ( $\omega$ -3,  $\omega$ -6 and  $\omega$ -9). In the experimental investigations on rats it was shown that injection of amaranth oil, containing a wide spectrum of unsaturated fatty acids, were marked not significant changes in lipoperoxidation processes, NO content, superoxide dismutase and catalase activity in the mucosa of large intestine. At introduction of amaranth oil against the background of ulcerogenic colitis was shown the increase of cytoprotective processes, decrease of lipoperoxidation processes, NO content, superoxide dismutase and catalase activity. Cytoprotective properties of the amaranth oil are associated with the content of unsaturated fatty acids and its influence on the level of unsaturated fatty acids in blood.

KEY WORDS: ulcerogenic colitis, lipoperoxidation processes, amaranth oil, unsaturated fatty acids.

Адреса для листування: О.Я. Скляр, Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, вул. Пекарська, 69а, Львів, 79001, Україна.

## ДОСЛІДЖЕННЯ ОКРЕМИХ ЛАНОК ОКИСНОГО ТА НЕОКИСНОГО ШЛЯХІВ ОБМІНУ L-АРГІНІНУ В ЛЕЙКОЦИТАХ ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ 1-ГО ТИПУ

М.Л. Барська<sup>1</sup>, І.В. Бродяк<sup>2</sup>, Н.О. Сибірنا<sup>2</sup>

ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ КЛІТИНИ НАН УКРАЇНИ<sup>1</sup>  
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ІВАНА ФРАНКА<sup>2</sup>

У поліморфнонуклеарних лейкоцитах крові при цукровому діабеті 1-го типу виявлено пригнічення неокисного та підсилення окисного шляхів метаболізму L-аргініну за зниженими показниками активності аргінази, підвищеними показниками активності NOS і збільшеним вмістом  $\text{NO}_2^-$  та  $\text{NO}_3^-$ . Натомість у мононуклеарних лейкоцитах відбуваються надмірна активація неокисного та зниження ефективності окисного метаболізму L-аргініну з відповідним зростанням активності аргінази і вмісту сечовини та зменшенням вмісту  $\text{NO}_3^-$  на фоні підвищення активності NOS і помірного збільшення вмісту  $\text{NO}_2^-$ .

КЛЮЧОВІ СЛОВА: поліморфнонуклеарні лейкоцити, мононуклеарні лейкоцити, цукровий діабет 1-го типу, NO-синтаза, аргіназа.

ВСТУП. Актуальним на сьогодні є вивчення механізмів, що лежать в основі порушень функції імункомпетентних клітин крові (ІКК) за умов цукрового діабету (ЦД) 1-го типу, у зв'язку з тим, що вони виступають етіологічною ланкою важких ускладнень, які виникають при цій патології і спричиняють високу смертність хворих. ЦД 1-го типу супроводжується розвитком оксидативного стресу, важлива роль у механізмі ініціації якого належить оксиду азоту ( $\text{NO}$ ) і його стабільним метаболітам –  $\text{NO}_2^-$  та  $\text{NO}_3^-$ .  $\text{NO}$  утворюється за участю ферменту NO-синтази (NOS) при окисному перетворенні L-аргініну і є однією з активних форм кисню. Фермент аргіназа конкурує з NOS за аргінін і перетворює цю амінокислоту на сечовину та орнітин неокисним шляхом. Співвідношення між цими шляхами метаболізму забезпечує в клітинах фізіологічний пул L-аргініну, а також генерацію активних форм азоту для здійснення лейкоцитами своїх функцій. Дослідження окисного та неокисного шляхів обміну L-аргініну в ІКК є важливим для вивчення впливу системи оксиду азоту на їхній функціональний стан та для розуміння патогенезу даного захворювання, прогнозу щодо його перебігу і терапії.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У досліджах використовували венозну кров з антикоагулянтном, отриману від 12 хворих на ЦД 1-го типу віком

© М.Л. Барська, І.В. Бродяк, Н.О. Сибірна, 2006.

від 22 до 55 років та 14 здорових донорів віком від 21 до 45 років. Мононуклеарні та поліморфнонуклеарні лейкоцити виділяли в окремі популяції у градієнті густини з використанням Gradisol-G ("Aqua-medica", Польща) за інструкцією фірми виробника. Лізис лейкоцитів проводили протягом 30 хв на льодяній бані буфером, якій містив набір інгібіторів протеїназ,  $\text{pH}=7,4$  [10]. Визначали: активність аргінази [9] та NOS [5, 8]; вміст сечовини в реакції з діацетилмонооксимом [4], нітрит-аніона ( $\text{NO}_2^-$ ) в безбілкових аліквотах лізатів клітин у колориметричній реакції за допомогою реактиву Гріса [3], вміст нітрат-аніона ( $\text{NO}_3^-$ ) в безбілкових аліквотах лізатів клітин після визначення вмісту  $\text{NO}_2^-$  [2]. Результати обробляли статистично із застосуванням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. За умов ЦД 1-го типу активність NOS зростає як у поліморфнонуклеарних, так і в мононуклеарних лейкоцитах (табл. 1). Відомо, що підвищення концентрації глюкози призводить до збільшення внутрішньоклітинного рівня мРНК індукційно-ізоформи – iNOS, внаслідок чого зростає активність сумарної NOS [6]. Це супроводжується утворенням надлишкової кількості  $\text{NO}$ , що може спричинити посилення вільнорадикальних процесів у досліджуваних клітинах [11]. Одночасно за умов ЦД 1-го типу в ІКК периферичної крові підвищується активність NADPH-оксидази, яка генерує активні форми

Таблиця 1 – Активність аргінази, NO-синтази та вміст стабільних метаболітів NO і рівень сечовини у поліморфнонуклеарних та мононуклеарних лейкоцитах крові здорових донорів та хворих на ЦД 1-го типу (M±m, n=12-14)

| Показники                                     | Групи          |               |                     |              |
|---|----------------|---------------|---------------------|--------------|
|   | Здорові донори | ЦД 1-го типу  | Здорові донори      | ЦД 1-го типу |
| Лейкоцити                                     | Мононуклеарні  |               | Поліморфнонуклеарні |              |
| NO-синтаза, нмоль/хв/мг білка                 | 0,98±0,33      | 5,47±1,04*    | 0,43±0,08           | 1,09±0,13*   |
| NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , нмоль/мг білка | 16,0±1,3       | 24,1±0,6*     | 4,4±0,6             | 8,5±0,7*     |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , нмоль/мг білка | 571,6±50,8     | 222,0±18,3*   | 115,8±12,2          | 490,0±50,0*  |
| Аргіназа, нмоль/хв/ мг білка                  | 89,37±16,52    | 212,72±38,65* | 99,52±15,58         | 51,72±10,95* |
| Сечовина, мкмоль/мг білка                     | 3,35±0,32      | 5,12±0,65*    | 1,69±0,35           | 1,80±0,24    |

Примітка. \* – різниця між даними досліджуваної групи і контролю вірогідна, p≤0,05.

кисню. Фактори, які індукують цей фермент, активують і функцію iNOS, а NADPH виступає донором електронів в процесі синтезу NO з L-аргініну і в такий спосіб взаємоузалежне утворення супероксиданіон-радикала та оксиду азоту [1]. Швидка радикал-радикальна взаємодія між NO та O<sub>2</sub><sup>-</sup> призводить до утворення в лейкоцитах високотоксичного пероксинітриду (ONOO<sup>-</sup>). Останній здатний модифікувати біологічні структури шляхом окиснення або нітрозилювання. Високі концентрації ONOO<sup>-</sup> мають пошкоджувальну дію на клітини. У кислому середовищі ONOO<sup>-</sup> перетворюється на NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> та OH [3]. Тому нами було досліджено вміст стабільних метаболітів NO: нітрит- (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) та нітрат- (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) аніонів за умов ЦД 1-го типу. Як у поліморфнонуклеарних, так і в мононуклеарних лейкоцитах крові хворих спостерігався суттєво підвищений рівень NO<sub>2</sub> порівняно з таким у здорових донорів (див. табл. 1).

Значне зростання активності NOS та вмісту NO<sub>2</sub><sup>-</sup> вказує на функціональну субактивованість досліджуваних клітин у хворих. Нітрит-аніон може легко відновлюватись до NO, утворюючи замкнений метаболічний цикл. Достовірно знижений вміст NO<sub>3</sub><sup>-</sup> в мононуклеарних лейкоцитах крові хворих супроводжується збільшенням вмісту сечовини, яка утворюється з L-аргініну під дією аргінази. За умов патології активність цього ферменту в ІКК зростає в 1,5 раза. Сечовина, яка утворюється в орнітиновому циклі з аргініну під дією аргінази, є інгібі-

тором iNOS та ефективним "скавенджером" іонів заліза, що зумовлює її високу антиоксидантну активність [7]. Разом із тим у поліморфноядерних лейкоцитах вміст NO<sub>3</sub>O зростає у 3,5 раза, тоді як активність аргінази знижувалась, а вміст сечовини не змінювався.

**ВИСНОВКИ.** Таким чином, у поліморфнонуклеарних лейкоцитах хворих на ЦД 1-го типу за показниками зниженої активності аргінази показано гальмування неокисного метаболізму L-аргініну, що можна пояснити його використанням на надмірний синтез оксиду азоту окисним шляхом. Кінцеві продукти метаболізму NO, посилюючи цитотоксичну дію поліморфнонуклеарних лейкоцитів, поглиблюють ускладнення, які супроводжують ЦД 1-го типу, пошкоджуючи ендотелій судин, порушуючи гемоциркуляцію та викликаючи тканинну дезорганізацію. Протилежний напрямок змін активності аргінази в мононуклеарних лейкоцитах свідчить про активацію неокисного метаболізму L-аргініну. Майже п'ятикратне підвищення активності NOS в цих клітинах на фоні помірного зростання вмісту NO<sub>2</sub><sup>-</sup> та зменшення вмісту NO<sub>3</sub><sup>-</sup> може бути наслідком зниження ефективності функціонування цього ферменту за умов патології. Порушення узгодження механізмів регуляції активності NOS та аргінази в мононуклеарних лейкоцитах може в такий спосіб призвести до виснаження фізіологічного пулу відносно незамінної амінокислоти аргініну в цих клітинах за умов ЦД 1-го типу.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Амосова К.М., Гула Н.М., Губський Ю.І. та ін. Стан NO-системи в еритроцитах крові хворих з первинною легеневою гіпертензією та його зміни під час лікування дилтаземом // Серце і судини. – 2004. – № 2. – С. 76-82.  
2. Кіселик І.О., Луцик М.Д., Шевченко Л.Ю. Особливості визначення нітратів та нітритів в периферичній крові у хворих на вірусні гепатити та

при синдромі жовтяниці іншої етіології // Лаб. діагностика. – 2001. – № 3. – С. 43-45.

3. Комаревцева І.О., Орлова О.А., Благодаренко Є.А. Вміст оксиду азоту в нирках за активації апоптозу // Укр. біохім. журн. – 2002. – 74, № 4. – С.116-119.

4. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. –

М.: Медицина, 1987. – С. 215-219.

5. Онуфриев М.В., Гуляева Н.В. Регистрация окисления NADPH как подход к оценке активности NO-синтазы // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1995. – № 8. – С. 148-150.

6. Покровский В.И., Виноградов Н.А. Оксид азота, его физиологические и патофизиологические свойства // Терапевт. арх. – 2005. – № 1. – С. 82-87.

7. Сагач В.Ф., Ткаченко М.М., Присяжна О.Д. та ін. Зміни вазодилататорних реакцій судинних гладеньких м'язів та системи оксиду азоту за умов експериментального цукрового діабету // Фізіол. журн. – 2003. – 49, № 4. – С. 24-32.

8. Сумбаев В.В., Ясинская И.М. Влияние ДДТ на активность синтазы оксида азота в печени, легких и головном мозге крыс // Современные проблемы токсикологии. – 2000. – № 3. – С. 3-7.

9. Davis R.H., Mora J. Arginase Assay // J. Bacteriology. – 1968. – 96. – P. 383-388.

10. Ferrell J.E., Martin G.S. Thrombin stimulates the activities of multiple previously unidentified protein kinases in platelets // J. Biol. Chem. – 1989. – 264, № 34. – P. 20723-20729.

11. Iori E., Calo L., Valbusa D. et al. Diabetic ketosis activates lymphomonocyte-inducible nitric oxide synthase // Diabet. Med. – 2002. – 19, № 9. – P. 777-783.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ ЗВЕНЬЕВ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО И НЕОКИСЛИТЕЛЬНОГО ПУТЕЙ ОБМЕНА L-АРГИНИНА В ЛЕЙКОЦИТАХ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 1-ГО ТИПА

М.Л. Барская<sup>1</sup>, И.В. Бродяк<sup>2</sup>, Н.А. Сибирная<sup>2</sup>  
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ КЛЕТКИ НАН УКРАИНЫ<sup>1</sup>

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ИВАНА ФРАНКО<sup>2</sup>

### Резюме

В полиморфнонуклеарных лейкоцитах крови при сахарном диабете 1-го типа выявлено угнетение неокислительного и усиление окислительного путей метаболизма L-аргинина по сниженным показателям активности аргиназы, повышенным показателям активности NOS и увеличенному содержанию  $\text{NO}_2^-$  и  $\text{NO}_3^-$ . В мононуклеарных лейкоцитах, наоборот, происходят чрезмерная активация неокислительного и снижение эффективности окислительного метаболизма L-аргинина, сопровождающееся возрастанием активности аргиназы и содержания мочевины, а также уменьшением содержания  $\text{NO}_3^-$  на фоне повышения активности NOS и умеренного увеличения содержания  $\text{NO}_2^-$ .

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: полиморфнонуклеарные лейкоциты, мононуклеарные лейкоциты, сахарный диабет 1-го типа, NO-синтаза, аргиназа.

## STUDY OF SEPARATE LINKS OF OXIDATIVE AND NON-OXIDATIVE PATHWAYS OF L-ARGININE METABOLISM IN LEUKOCYTES UNDER TYPE 1 DIABETES MELLITUS

M.L. Barska<sup>1</sup>, I.V. Brodyk<sup>2</sup>, N.O. Sybirna<sup>2</sup>  
INSTITUTE OF CELL BIOLOGY, NAS OF UKRAINE<sup>1</sup>  
LVIV NATIONAL UNIVERSITY BY IVAN FRANKO<sup>2</sup>

### Summary

Inhibition of non-oxidative and activation of oxidative pathways of L-arginine metabolism under type 1 diabetes mellitus is shown in blood polymorphonuclear leukocytes. This conclusion is based on lowering of arginase activity, increase of NOS activity and the content of  $\text{NO}_2^-$  and  $\text{NO}_3^-$ . In mononuclear leukocytes, inversely, excessive activation of non-oxidative and decrease of oxidative pathways of L-arginine metabolism with according increase of arginase activity and urea content and  $\text{NO}_3^-$  content against the background of increase of NOS activity and content of  $\text{NO}_2^-$  occurred.

KEY WORDS: polymorphonuclear leucocytes, mononuclear leucocytes, type 1 diabetes mellitus, NO-synthase, arginase.

Отримано 05.09.2005 р.

Адреса для листування: Н.О. Сибірна, Львівський національний університет ім. Івана Франка, вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна.

## АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ РІЗНИХ ЧАСТИН ЕХІНАЦЕЇ ПУРПУРОВОЇ ЯК ПОКАЗНИК ЇЇ ПРОФІЛАКТИЧНОЇ ТА ЛІКУВАЛЬНОЇ ЦІННОСТІ

І.М. Туряниця<sup>1</sup>, М. Бурдова<sup>1</sup>, Л.М. Росток<sup>2</sup>, Й. Гудец<sup>1</sup>, Л.І. Балінт<sup>2</sup>  
СЛОВАЦЬКИЙ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ<sup>1</sup>  
УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ<sup>2</sup>

*Проведено дослідження антиоксидантної активності різних частин ехінацеї пурпурової (листівок, насіння, стебла, квіток) залежно від часу збирання та технології зберігання. Показано, що найвищою антиоксидантною активністю характеризуються квітки, зібрані в період повного цвітіння, дещо нижчою – зелені та сухі листки, причому показники в зелених наростають до вересня. Це дозволяє рекомендувати їх використання для підвищення антиоксидантного ефекту в організмі та профілактики і лікування хвороб цивілізації.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ехінацея пурпурова, антиоксидантна активність.

ВСТУП. Останнім часом великого значення надають оксидантному стресу, який спричиняє цілий ряд захворювань, зокрема кардіоваскулярні, рак, цукровий діабет, дегенеративні хвороби, пов'язані зі старінням [3]. Вважають, що антиоксиданти відіграють важливу роль у профілактиці цих хвороб цивілізації. Сьогодні велику увагу привертають поліфенольні сполуки, що мають виражену антиоксидантну активність та здатні підтримувати кисневу забезпеченість клітин на оптимальному рівні й відігравати виняткову роль у профілактиці та лікуванні значних фізичних і емоційних навантажень, впливі екологічно несприятливих факторів [1]. До рослин з високим вмістом таких сполук належить і ехінацея пурпурова (*Echinacea purpurea*). Її широко використовують як імуностимулятор при інфекціях верхніх дихальних шляхів [2]. Вважають, що активними компонентами ехінацеї пурпурової є 4 групи речовин: фенілпропаноїди, алкаміди, полісахариди та глікопротеїни. Головними фенілпропаноїдами рослини є похідні кофейної кислоти, наприклад кислота цикорієва, а також флавоноїди та антоціани, які проявляють значну антиоксидантну активність [2]. Показано антиоксидантний ефект екстрактів ехінацеї пурпурової на бета-ліпопротеїди людини *in vitro*, тобто здатність захищати бета-ліпопротеїди від оксидативної модифікації, що є визначальною

в патогенезі атеросклерозу та інших кардіоваскулярних захворювань [3, 4]. Це обґрунтовує доцільність використання рослини для профілактики і лікування хвороб цивілізації. Однак залишається недостатньо дослідженою антиоксидантна активність різних частин ехінацеї залежно від часу збирання та технології зберігання.

Метою роботи було визначення антиоксидантної активності (АОА) різних частин ехінацеї пурпурової залежно від часу збирання та технології зберігання.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Матеріалом дослідження були різні частини ехінацеї пурпурової (листки, насіння, стебло, квітки), зібрані в різний час (липень, серпень, вересень) у свіжому та сухому матеріалі (сушеному на повітрі при лабораторній температурі).

Визначення АОА проводили за методикою D.E. Pratt (1992) [5]. До бета-каротену, розчиненого в хлороформі (1 мл), додавали 0,02 мл лінолевої кислоти і 0,2 мл TWIN 20, потім спиртовий екстракт рослини в кількості, що відповідала константній масі всіх аналізованих матеріалів у перерахунку на сухий матеріал. До кожної проби додавали 50 мл дистильованої води, насиченої киснем. Поглинання вимірювали при довжині хвилі 470 нм одразу після перемішування проби. У подальшому проби поміщали в термостат при 50 °С, поглинання вимірювали в часових інтервалах

© І.М. Туряниця, М. Бурдова, Л.М. Росток, Й. Гудец, Л.І. Балінт, 2006.

15, 45 та 120 хв для встановлення динаміки змін АОА (зменшення інтенсивності забарвлення). Антиоксидантну активність вираховували як відсоток інгібіції оксидації проти контрольної проби без додавання спиртового екстракту рослини:

$$\% \text{ антиоксидантної активності} = 100 \times (1 - (A_v^o - A_v^{120}) / (A_k^o - A_k^{120})),$$

де  $A_v^o$  – поглинання проби в часі 0;  
 $A_v^{120}$  – поглинання проби через 120 хв;  
 $A_k^o$  – поглинання контрольного взірця в часі 0;  
 $A_k^{120}$  – поглинання контрольного взірця через 120 хв.

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

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** З одержаних результатів випливає, що на характеристики АОА в системі "бета-каротен-лінолева кислота" мають вірогідний вплив термін збору матеріалу та технологія зберігання.

Цикорієва кислота, яка, за даними літератури, найбільше пов'язана з імунітетом, у найбільшій концентрації міститься в квітках ехінацеї пурпурової в період повного цвітіння [2]. Збирання в цей час (липень) показало, що найвищі показники АОА було виявлено в квітках цієї рослини (табл. 1). Не випадково фармацевтичні переробники сировини часто додають частину стебла (10-15 см) з насінням та квітками ехінацеї пурпурової до продукції. Кількісна вагова відсоткова частка квіток у такій суміші надто низька, а тим самим внесок в антиоксидантну активність є мінімальним. З іншого боку, вміст цикорієвої кислоти та інших біологічно активних сполук, пов'язаних з імунною активністю, є при виробі пріоритетним. Тому з вищесказаного випливає, що цінність технологічно перероблюваної суміші, з огляду на АОА, може бути зумовлена не лише поліфенолами, зокрема цикорієвою кислотою, але й іншими компонентами (вітамінами, мікроелементами).

Таблиця 1 – Антиоксидантна активність різних частин ехінацеї пурпурової

| Взірець | Вид матеріалу | Антиоксидантна активність залежно від терміну збирання через 120 хв |                |                 |
|---------|---------------|---|----------------|-----------------|
|         |               | 8 липня, n=8  | 12 серпня, n=8 | 10 вересня, n=8 |
| листки  | свіжий        | 51,1±1,18   | 53,2±1,92      | 68,7±0,76* **   |
| насіння | свіжий        | 41,5±1,79   | 13,8±1,58*     | 15,4±1,23 *     |
| стебло  | свіжий        | 35,1±2,10   | 6,40±0,98*     | 13,3±1,62* **   |
| квітки  | свіжий        | 73,4±1,64   | 29,8±1,47*     | –               |
| листки  | сухий         | 55,3±1,33   | 58,3±1,24      | 53,6±1,07 **    |
| насіння | сухий         | 33,0±1,27   | 54,4±2,11*     | 27,1±1,83 **    |
| стебло  | сухий         | 10,6±1,14   | 20,6±1,36*     | 28,1±2,11* **   |
| квітки  | сухий         | 56,4±0,98   | 3,2±0,39*      | –               |

Примітка. \* та \*\* – відмінності достовірні відносно 1 гр. та відповідно до 2 гр.

У досліджуваних взірцях етаноліві екстракти листків (свіжих або сушених на повітрі при лабораторній температурі), зібраних у липні-серпні, мають практично однакову АОА. Однак до вересня у свіжих листках достовірно підвищується АОА, що свідчить про підвищення їх біологічної цінності, а в сухих дещо знижується в динаміці спостереження, хоча й зберігається на достатньо високому рівні. Квітки, зібрані в період повного цвітіння (липень), характеризуються найвищою АОА порівняно з показниками інших частин ехінацеї пурпурової. Слід зауважити, що квітки, зібрані у серпні, мають значно нижчу (майже на 60 %) АОА, ніж показники в попередній групі. Це свідчить про доцільність збирання квіток як джерела антиоксидантів у період повного цвітіння.

Слід зауважити, що АОА насіння та стебла ехінацеї пурпурової, зелених та сухих рослин є нижчою і в найоптимальнішій фазі розвитку рослин (липень) порівняно з показниками листків та квіток з достовірним зменшенням до вересня в зелених рослинах. При цьому в сухому матеріалі зі стебел спостерігається поступове збільшення показників АОА від липня до вересня. Цікаво, що АОА сушеного насіння суттєво зростає лише від липня до серпня, перевищуючи показник АОА несусшеного насіння в той же період на 74 %, однак у подальшому (вересень) він знижується.

Отже, в процесі переробки та зберігання матеріалу можуть відбуватися структурні зміни, які призводять до утворення сполук, що підвищують АОА. З вищесказаного випливає, що не лише квітки, але й інші частини рослини можуть бути джерелом антиоксидантів, які можна застосовувати в харчуванні як засоби для профілактики надмірного накопичення вільних радикалів та при лікуванні патологічних станів, зокрема хвороб цивілізації.

**ВИСНОВОК.** Різні частини ехінацеї пурпурової мають різну антиоксидантну активність, яка залежить від часу збирання та технології зберігання. Найвищою антиоксидантною

активністю характеризуються квітки, зібрані в період повного цвітіння, дещо нижчою – зелені та сухі листки, причому показники в зелених наростають до вересня. Це дозволяє реко-

мендувати їх використання для підвищення антиоксидантного ефекту в організмі й профілактики та лікування хвороб цивілізації.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Кузнецова В.Ю., Кисличенко В.С. Полифенольные сполуки винограду культурного // Мед. хімія. – 2004. – **6**, № 1. – С. 59-63.
2. Dalby-Brown Lea, Barsett Hilde, Landbo Anne-Katrine R. et al. Synergistic Antioxidative Effects of Alkamides, Caffeic Acid Derivatives, and Polysaccharide Fractions from Echinacea purpurea on in Vitro Oxidation of Human Low-Density Lipoproteins // J. Agric. Food Chem. – 2005. – **53**. – P. 9413-9425.
3. Ginter E. Antioxidanty v ludskej vyzive // Vesmir. – **8**. – 1998. – S. 77. (<http://www.vesmire.cz/clanek.php3.CID=1682>)
4. Hu C., Kitts D.D. Studies on the antioxidant activity of Echinacea root extract // J. Agric. Food Chem. – 2000. – **48**. – P. 1466-1472.
5. Pratt D.E. Natural antioxidants from plant material. In: Phenolic compounds in food and their effect on health II: Antioxidants and cancer prevention: Huan T.M., Ho C.T., Lee, C.Y., Eds Washington, DC: American Chemical Society. – 1992. – P. 54-71.

## АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ РАЗНЫХ ЧАСТЕЙ ЭХИНАЦЕИ ПУРПУРНОЙ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ЕЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ И ЛЕЧЕБНОЙ ЦЕННОСТИ

**И.М. Туряница<sup>1</sup>, М. Бурдова<sup>1</sup>, Л.М. Росток<sup>2</sup>, Й. Гудец<sup>1</sup>, Л.И. Балинт<sup>2</sup>**  
СЛОВАЦКИЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ<sup>1</sup>  
УЖГОРОДСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ<sup>2</sup>

#### Резюме

Проведено исследование антиоксидантной активности различных частей эхинацеи пурпурной (листьев, семян, стебля, цветков) в зависимости от времени сбора и технологии хранения. Показано, что наиболее высокой антиоксидантной активностью характеризуются цветки, собранные в период полного цветения, несколько ниже – зеленые и сухие листья, причем показатели у зеленых нарастают к сентябрю. Это позволяет рекомендовать их использование для повышения антиоксидантного эффекта в организме и профилактики и лечения болезней цивилизации.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: эхинацея пурпурная, антиоксидантная активность.

## ANTIOXIDANT ACTIVITY OF VARIOUS PARTS OF ECHINACEA PURPUREA AS THE INDEX OF ITS PROPHYLACTIC MEDICINAL VALUE

**I.M. Turyanitsa<sup>1</sup>, M. Burdova<sup>1</sup>, L.M. Rostoka<sup>2</sup>, J. Hudec<sup>1</sup>, L.I. Balint<sup>1</sup>**  
SLOVAK AGRICULTURAL UNIVERSITY<sup>1</sup>  
UZHGOROD NATIONAL UNIVERSITY<sup>2</sup>

#### Summary

The investigation of antioxidant activity of Echinacea purpurea various parts (Leaves, seeds, stem, flowers) depending on the period of its gathering and preservation technology has been carried out. It has been shown that the flowers gathered in period of full blossoming have the most intensive antioxidant activity, while green and dry leaves have somewhat lower activity, the indices of green leaves gathered till September rise. This enables to recommend their consumption for increasing the antioxidant effect in the organism and to include them into prophylactic and treating diets of civilization diseases.

KEY WORDS: Echinacea purpurea, antioxidant activity.

Адреса для листування: І.М. Туряница, пров. Університетський, 6 /20, Ужгород, 88000, Україна.



## СТАТЕВІ ОСОБЛИВОСТІ РЕАГУВАННЯ ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ ПЛАЗМИ КРОВІ НА ГІПОБАРИЧНУ ГІПОКСІЮ ЗА УМОВ РІЗНОЇ ТРИВАЛОСТІ ФОТОПЕРІОДУ

О.В. Ясінська

БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

*Вивчали статеві особливості реагування про- та антиоксидантної систем плазми крові статевонезрілих щурів на дію гіпобаричної гіпоксії, аналогічної такій на висоті 4000 м над рівнем моря, за різних варіантів фотоперіоду (природного освітлення, постійного освітлення, постійної темряви). У статевонезрілих самок реактивність антиоксидантної системи була вищою, ніж у самців, що зумовило більшу стабільність процесів перекисного окиснення ліпідів.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантні ферменти, гіпобарична гіпоксія, фотоперіод, стаття.

ВСТУП. Гіпоксія – досить розповсюджене явище, яке виникає внаслідок порушення оксигенації тканин як за умов дефіциту кисню в навколишньому середовищі, так і за різноманітних патологічних станів. Характер і наслідки гіпоксії залежать від індивідуальних особливостей організму: віку, статі, функціонального стану тощо [3]. Зниження вмісту  $pO_2$  у вдихуваному повітрі за умов гіпобаричної гіпоксії зумовлює його послідовне зменшення в альвеолярному повітрі, артеріальній крові, тканинах і клітинах організму. В оцінці гіпоксичного стану організму на системному рівні особлива роль відводиться процесам перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Активізація ПОЛ є прямим результатом та найбільш загальною неспецифічною ланкою впливу на живу систему різноманітних стрес-агентів, у тому числі й екзогенної гіпоксії, що провокує реакцію-відповідь організму, запускаючи механізми протидії окиснювальному стресу [5]. Особливості проявів гіпоксії в різні періоди доби вказують на їх імовірну залежність від функціонального стану епіфіза [2]. Відомо, що поряд з мелатоніном, катехоламінами та глюкокортикоїдами помірну антиоксидантну активність мають і статеві стероїди, зумовлюючи відмінності реагування на стрес в особин різної статі [7]. Однак досі невирішеним залишається питання особливостей реагування про- й антиоксидантної систем організму на комбіновану дію екзогенної гіпоксії та зміненого фотоперіоду залежно від статі.

© О.В. Ясінська, 2006.

Мета дослідження – простежити особливості ПОЛ і пов'язаної з ним зміни деяких антиоксидантних ферментів у плазмі крові статевонезрілих щурів за комплексних умов гіпобаричної гіпоксії та різної тривалості фотоперіоду залежно від статі тварин.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на 108 білих лабораторних безпородних статевонезрілих щурах із середньою масою тіла 0,052 кг (48 самців та 60 самок). Використовували власну модель досліду, яка включала: гіпобаричну гіпоксію, що відповідає висоті 4000 м над рівнем моря, зі швидкістю піднімання 0,4 км/хв; утримування тварин у гіпоксичних умовах протягом 7 днів по 6 год щодня за різних фотоперіодичних режимів (природного освітлення, постійного освітлення та постійної темряви). Контрольними були інтактні щури, які перебували в умовах природного освітлення та звичайного атмосферного тиску. Тварин кожної статі поділили на 6 рівних груп. Після закінчення гіпоксичного впливу всіх щурів декапітували під легким ефірним наркозом. У плазмі крові визначали вміст дієнових кон'югат (ДК), малонового діальдегіду (МДА) [1] та активність супероксиддисмутази (СОД) і каталази [4, 6]. Статистичну обробку результатів здійснювали за методом варіаційної статистики з використанням критерію t-Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Гіпобарична гіпоксія за природного освітлення у тварин

Таблиця 1 – Показники про- та антиоксидантної систем плазми крові за гіпоксії та зміненого фотоперіоду в статевонезрілих щурів залежно від статі (M±m)

| Умови досліджу      |           | ДК,<br>нмоль/мг білка |                        | МДА,<br>нмоль/мг білка |                        | СОД,<br>од./хв/мг білка |                       | Каталаза,<br>мкмоль/хв/мг білка |                       |
|---------------------|-----------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------|---------------------------------|-----------------------|
|                     |           | самці                 | самки                  | самці                  | самки                  | самці                   | самки                 | самці                           | самки                 |
| Природне освітлення | нормоксія | 0,8153±<br>0,0096     | 1,024±<br>0,0244^      | 0,2487±<br>0,0034      | 0,2665±<br>0,0056^     | 6,897±<br>0,0647        | 7,542±<br>0,1962^     | 1,822±<br>0,0226                | 6,846±<br>0,1367^     |
|                     | гіпоксія  | 0,8190±<br>0,0116     | 1,045±<br>0,0399^      | 0,2400±<br>0,0031      | 0,2494±<br>0,0082      | 7,141±<br>0,0814*       | 10,75±<br>0,2907*,^   | 2,049±<br>0,0361*               | 7,182±<br>0,1016^     |
| Постійне освітлення | нормоксія | 0,8819±<br>0,0087*,** | 0,8541±<br>0,0182*     | 0,2562±<br>0,0047**    | 0,2651±<br>0,0127      | 7,408±<br>0,0769*,**    | 7,577±<br>0,1712      | 1,654±<br>0,0154*,**            | 1,873±<br>0,0437*,^   |
|                     | гіпоксія  | 1,003±<br>0,0142*,**  | 0,8582±<br>0,0123*,*** | 0,2816±<br>0,0038*,**  | 0,3299±<br>0,0070*,*** | 7,707±<br>0,0716*,**    | 8,895±<br>0,1255*,*** | 1,820±<br>0,0294**              | 1,731±<br>0,0374*     |
| Постійна темрява    | нормоксія | 1,234±<br>0,0046*     | 1,729±<br>0,0162*,***  | 0,5069±<br>0,0092*     | 0,5725±<br>0,0065*,*** | 3,775±<br>0,1178*       | 6,029±<br>0,1232*,*** | 2,171±<br>0,0218*               | 2,779±<br>0,0423*,*** |
|                     | гіпоксія  | 1,477±<br>0,0182*,**  | 1,774±<br>0,0282*,**   | 0,6029±<br>0,0086*,**  | 0,6644±<br>0,0117*,**  | 6,617±<br>0,0910*,**    | 8,325±<br>0,1636*,**  | 2,318±<br>0,0460*,**            | 2,780±<br>0,0613*,**  |

Примітка. \* – вірогідно відносно контролю (природного освітлення, нормоксії) (p<0,05); \*\* – вірогідно відносно показників групи нормоксії за таких же умов освітлення (p<0,05); \*\*\* – вірогідно відносно показників у статевонезрілих щурів-самців за тих самих умов (p<0,05).

обох статей викликала зростання активності антиоксидантних ферментів при практично незмінному вмісті продуктів ПОЛ порівняно з нормоксією, однак у самців це відбулося за рахунок каталазної активності, тоді як у самок підвищувалась активність СОД (табл. 1).

Найбільш виражені статеві відмінності регування про- та антиоксидантної систем проявилися в досліді зі зміненим фотоперіодом. За поєднаної дії гіпоксії та постійного освітлення у самок вміст ДК знижувався порівняно з інтактними тваринами, а МДА – зростав, тоді як у самців вміст обох продуктів ПОЛ був вищим за такий у інтактних самців. Відповідно, вміст ДК у плазмі крові самок був на 14,4 % меншим, а МДА – на 17,2 % більшим, ніж у самців. Одночасно з цим виявлено зростання активності СОД у тварин обох статей, однак у самців це супроводжувалось підвищенням активності каталази, а у самок вона знижувалася.

За постійної темряви у плазмі крові тварин обох статей вміст продуктів ПОЛ був значно

вищим, ніж у інтактних щурів. Гіпоксія на тлі постійної темряви у самців викликала синхронне зростання вмісту в крові продуктів ПОЛ, а у самок збільшився лише вміст МДА. Різний напрямок мали зміни активності антиоксидантних ферментів за постійної темряви: у самок знижувалася активність обох ферментів, тоді як у самців активність СОД значно знижувалася, а каталази – зростала. У результаті активність СОД у крові самок була на 59,7 % вищою за таку в крові самців, а каталазна активність – на 28,0 % більшою відповідно.

**ВИСНОВКИ.** 1. У статевонезрілих щурів реакція про- та антиоксидантної систем плазми крові на комбіновану дію гіпоксії та зміненого фотоперіоду залежить від статі.

2. У відповідь на гіпобаричну гіпоксію за всіх варіантів фотоперіоду антиоксидантна система самок реагує активніше, ніж самців, що зумовлює більшу стабільність процесів ПОЛ.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33-36.
2. Заморский И.И., Пишак В.П. Функциональная организация фотопериодической системы голов-

ного мозга // Успехи физиол. наук. – 2003. – **34**, № 4. – С. 37-53.

3. Иванов С.В., Олійник С.А., Репетуа Я.Д., Футорний С.М. Окисний стрес та гіпоксичні стани: погляд на проблему // Військ. медицина України. – 2005. – **5**, № 1. – С. 78-86.

4. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. и др. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-18.

5. Сазонтова Т.Г., Архипенко Ю.В. Роль свободнорадикальных процессов и редокс-сигнализации в адаптации организма к изменению уровня кислорода // Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2005. – 91, № 6. – С. 636-656.

6. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678-681.

7. Mourek J., Smidova L., Dohnalova A. Lipoperoxidative activities in the cerebral cortex and medulla oblongata, related to age, sex, oxygen deficiency and short-term fasting // Prague Med. Rep. – 2005. – 106 (3). – P. 253-260.

## ПОЛОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАГИРОВАНИЯ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ ПЛАЗМЫ КРОВИ НА ГИПОБАРИЧЕСКУЮ ГИПОКСИЮ В УСЛОВИЯХ РАЗНОЙ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ФОТОПЕРИОДА

**Е.В. Ясинская**

БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

### Резюме

*Изучали половые особенности реагирования про- и антиоксидантной систем плазмы крови неполовозрелых крыс на действие гипобарической гипоксии, аналогичной таковой на высоте 4000 м над уровнем моря, при разных вариантах фотопериода (природном освещении, постоянном освещении, постоянной темноте). У неполовозрелых самок реактивность антиоксидантной системы была выше, чем у самцов, что обусловило большую стабильность процессов перекисного окисления липидов.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** перекисное окисление липидов, антиоксидантные ферменты, гипобарическая гипоксия, фотопериод, пол.

## SEX-DEPENDENT REACTION OF BLOOD PLASMA OXIDATIVE AND ANTIOXIDATIVE SYSTEMS ONTO THE HYPOBARIC HYPOXIA UNDERVARYING DURATION OF PHOTOPERIOD

**O.V. Yasinska**

BUCOVYNIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

### Summary

*The effect of hypobaric hypoxia under a varying duration of photoperiod on the state of oxidative (malonic aldehyde and dien conjugates) and antioxidative (catalase and superoxide dismutase activity) systems in the blood plasma of infantile albino male rats was been investigated. It is concluded that there is a sex-dependent reaction of oxidative and antioxidative systems onto the combined action of hypobaric hypoxia and varying duration of photoperiod.*

**KEY WORDS:** lipid peroxidation, antioxidative enzymes hypobaric, hypoxia, photoperiod, sex.

**Адреса для листування:** О.В. Ясинська, Буковинський державний медичний університет, Чернівці, Україна.

## ОЦІНКА СТАНУ ГЛУТАТІОНОВОЇ СИСТЕМИ В ІМУНОКОМПЕТЕНТНИХ КЛІТИНАХ КРОВІ ЗА ДІЇ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ

Г.Я. Клевета, Л.О. Дацюк, У.В. Старанко, І.В. Чорна, Я.П. Чайка, Р.С. Стойка  
Львівський національний університет ім. Івана Франка

*Хронічне опромінення щурів у щодобовій дозі 1 сГр призводить до істотних порушень у глутатіоновій системі лімфоцитів тварин. Встановлено зростання вмісту відновленого глутатіону на фоні зниження активності ферментів глутатіонові системи, що вказує на вищу ефективність цитопротекторної дії низькомолекулярних антиоксидантів за впливу іонізуючої радіації у сумарнопоглинутих дозах 10-30 сГр.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** низькоінтенсивне рентгенівське опромінення, глутатіонова система, лімфоцити.

**ВСТУП.** Імунокомпетентні клітини є об'єктом дослідження радіоіндукованих порушень метаболічних процесів, оскільки вони характеризуються високою радіочутливістю, важливими біологічними функціями та великою швидкістю обмінних процесів. Відомо, що на рівні метаболічних процесів клітини формуються реакції відповіді на різноманітні впливи, зокрема іонізуючої радіації.

Відновлений глутатіон, глутатіонпероксидаза (ГПО), глутатіонредуктаза (ГР), глутатіонтрансфераза та НАДФН<sup>+</sup> утворюють глутатіонову антипероксидну систему. Дослідження впливу на цю систему з успіхом використовують в експериментальній терапії і починають застосовувати у клінічній практиці.

Глутатіон як лікувальний препарат рекомендують при інтоксикаціях, автотоксикозах, алергіях, раку, за умов променевої хвороби тощо. Однак користь від введення глутатіону також викликає певні сумніви з огляду на його погане проникнення у тканини. Більш перспективними вважають спрямовані впливи на глутатіонову систему з метою підвищення чи зниження його концентрації у тканинах, зміни кількості чи активності ферментів обміну глутатіону. Особливо перспективними можуть бути такі дослідження за впливу іонізуючого випромінювання, оскільки глутатіонова система і взагалі тілові сполуки відіграють важливу захисну та детоксикаційну роль в опроміненому організмі [1].

© Г.Я. Клевета, Л.О. Дацюк, У.В. Старанко, І.В. Чорна, Я.П. Чайка, Р.С. Стойка, 2006.

Метою роботи було дослідити вплив хронічного рентгенівського опромінення у щодобовій дозі 1 сГр на стан основних показників глутатіонові системи лімфоцитів щурів.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Досліди проводили на білих безпородних щурах-самках масою 150-180 г, яких утримували в стандартних умовах віварію. У дослідженнях використано 144 тварини, яких було поділено на 3 групи: 1-ша – інтактні тварини (контроль); 2-га – тварини, яких впродовж 30-ти діб опромінювали у дозі 1 сГр на апараті РУМ-17 із застоуванням фільтрів Cu (0,5 мм) та Al (1 мм); потужність дози – 0,067 мГр·с<sup>-1</sup>; напруга – 140 кВ, сила струму – 4 мА, шкірно-фокусна відстань – 178 см. Для експерименту щурів використовували на 10, 20, 30-ту доби після опромінення (сумарна доза становила, відповідно, 10, 20 та 30 сГр). Тварин 3-ї групи використовували для досліджень на 40-у добу після припинення 30-добового опромінення. Дозу опромінення контролювали клінічним дозиметром типу 27012 (Otto Shon, Німеччина) [7-9].

Лімфоцити з периферичної крові тварин виділяли, використовуючи суміші фікол-тріомбасту, густина суміші була в межах 1,076-1,078 [2]. Активність ГР (НАДФН:окиснений глутатіон оксидоредуктаза, КФ 1.6.4.2.) визначали за зниженням оптичного поглинання НАДФН<sup>+</sup> при 340 нм у реакції з окисненим глутатіоном [10]. Вміст відновленого глутатіону та активність ГПО (глутатіон: пероксид водню

оксидоредуктаза, КФ 1.11.1.9) – методом, який ґрунтується на кольоровій реакції, що розвивається внаслідок взаємодії SH-груп із реактивом Елмана [3, 4]. Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу (Гл-6-фДГ) активність визначали за зростанням вмісту НАДФН [4]. Статистичне опрацювання результатів виконували загальноприйнятими методами варіаційної статистики.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Дані, отримані в експериментах щодо визначення основних показників глутатионової системи за впливу хронічного рентгенівського опромінення, наведено у таблиці 1.

Аналіз отриманих результатів свідчить про підвищення вмісту відновленого глутатіону в лімфоцитах щурів за дози опромінення 20 сГр на 34 % щодо контролю.

Таблиця 1 – **Активність антиоксидантних ферментів та вміст відновленого глутатіону (нмоль/10<sup>6</sup>) у лімфоцитах щурів за впливу низькоінтенсивного опромінення (M±m, n=3-6)**

| Досліджувані показники | Контроль   | Опромінення |             |             | Післядія    |
|------------------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|                        |            | 10 сГр      | 20 сГр      | 30 сГр      |             |
| Відновлений глутатіон  | 23,1±5,9   | 8,1±2,6     | 30,9±2,4*   | 12,0±1,6    | 15,1±0,8    |
| Активність ГР          | 29,45±0,84 | 18,64±0,64* | 23,63±0,64* | 16,08±0,64* | 31,7±1,02   |
| Активність ГПО         | 3,38±0,63  | 2,04±0,44   | 1,28±0,13   | 3,45±0,17   | 4,25±0,32   |
| Активність Гл-6-фДГ    | 12,56±1,07 | 7,4±1,27*   | 9,86±0,65   | 13,02±1,44  | 17,04±0,71* |

Примітка. \* – різниця вірогідна щодо контролю, p<0,05.

казників, що може свідчити про мобілізацію антиоксидантної системи.

**ВИСНОВОК.** Таким чином, у лімфоцитах опромінених щурів, з одного боку, спостерігається збільшення продукції відновленого глутатіону, а з іншого – пригнічення шляхів його використання ферментами ГПО та ГР, актив-

Встановлено зниження активності ГР після опромінення у дозах 10-30 сГр щодо контролю на 37,0, 19,8 та 45,4 % відповідно. Аналогічну закономірність встановлено для активності ГПО та Гл-6-фДГ. Так, на 10-20 доби, коли сумарна доза опромінення становила 10 – 20 сГр, активність ГПО вірогідно знижувалася, відповідно на 41,4 і 21,5 %, а активність Гл-6-фДГ – на 41,1 та 21,5 %. Активність ГПО залежить від концентрації глутатіону, який відновлюється ГР. Функціонування останньої залежить від НАДФН<sup>+</sup>, вміст якого, у свою чергу, визначається у реакціях пентозомонофосфатного шунта, зокрема за участю Гл-6-фДГ.

На термінальному етапі опромінення, за дози 30 сГр, відмічено нормалізацію активності ГПО та Гл-6-фДГ. Дослідження ефектів післядії виявило відновлене зростання активності всіх досліджуваних ензимів щодо контрольних по-

нів яких інгібується іонізуючим випромінюванням, що може бути причиною підвищення вмісту відновленого глутатіону [5, 6]. Імовірно високий вміст глутатіону зумовлений посиленням його синтезу, оскільки відомо, що під дією активних форм кисню у клітинах відбувається активація експресії редоксчутливих генів, зокрема глутамілцистеїнсинтази, що залучена у синтез глутатіону.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньшикова Е.Б. Окислительный стресс. – М.: Наука / Интерпериодика, 2001. – 343 с.
2. Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д. Посібник з лабораторної імунології. – Львів, 2002. – 173 с.
3. Методы биохимических исследований / Под ред. М.И. Прохоровой. – Ленинград: Изд-во Ленинград. ун-та, 1982. – 272с.
4. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело. – 1986. – № 12. – С. 124.
5. Сахно Т.О., Давидова Т.І., Чумак А.А. Вплив іонізуювальної радіації на імунокомпетентні клітини // Укр. радіол. журн. – 1997. – № 5. – С. 87-89.

6. Сибірна Н.А., Сухомлинов Б.Ф., Хміль М.В. Цитологічні та фізико-хімічні методи дослідження крові. – Львів: ЛДУ, 2002. – 69 с.
7. Тимирбулатов Р.А., Селезнев Е.И. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лаб. дело. – 1981. – № 4. – С. 209-211.
8. Burlakova E.B. New aspects of regularities in the action of low doses of low-level irradiation. In low doses of radiation; are they dangerous. Ed E.B. Burlakova. N.Y.: Nova Science Publishers, Inc. Huntington. – 2000. – Ch. 1. – P. 1-14.
9. Eidus L.Kh. Hypothesis regarding a membrane-

assotiated mechanism of biological action dueto low dose radiation // Radiat. Environ. Biophysics. – 2000. – 39. – P. 189-195.

10. Lohr G.W., Waller H.D. Clucose-6-phosphase Dehydrogenase / in Bergmayer H.U.(Ed.)Methods of Enzymaric Analysis. – New.York, Acad. Press, 1974. – P. 636-643.

## ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ГЛУТАТИОНОВОЙ СИСТЕМЫ В ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТКАХ КРОВИ В УСЛОВИЯХ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Г.Я. Клевета, Л.А. Дацюк, У.В. Старанко, И.В. Чорна, Я.П. Чайка, Р.С. Стойка  
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ИВАНА ФРАНКО

### Резюме

*Хроническое облучение крыс в ежедневной дозе 1 сГр обуславливает существенные нарушения в глутатионовой системе лимфоцитов животных. Установлено повышение содержания восстановленного глутатиона на фоне снижения активности глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы, а также глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, что указывает на высшую эффективность цитопротекторного действия низкомолекулярных антиоксидантов в условиях влияния ионизирующей радиации в суммарно поглощенных дозах 10-30 сГр.*

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **низкоинтенсивное рентгеновское облучение, глутатионовая система, лимфоциты.**

## ESTIMATION OF OF GLUTATHIONE SYSTEM STATE IN IMMUNOCOMPETENT CELLS OF BLOOD UNDER THE EFFECT OF LOW DOSE X-RADIATION

Н.Я. Kleveta, U.V. Staranko, L.O. Datsyuk, I.V. Chorna, Ya.P. Chayka, R.S. Stoyka  
LVIV NATIONAL UNIVERSITY BY IVAN FRANKO

### Summary

*The chronic X-irradiation of rats with everyday dose of 1 cGy results in substantial changes of the lymphocyte glutathione system of animal lymphocytes. Elevation of the content of reduced glutathione against background of decline of the activity of glutathione system. These change prove higher efficiency of cyto protective action of low molecular antioxidants at the action of ionizing radiation in the total doses of 10-30 cGy.*

KEY WORDS: **low-dose x-radiation, glutathione system, lymphocytes.**

Отримано 05.03.2006 р.

Адреса для листування: Г.Я. Клевета, Львівський національний університет ім. Івана Франка, вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна.

## ІНТЕНСИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ОКИСНЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ І ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ ТА КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ НАСТОЯНКИ ЕХІНАЦЕЇ ПУРПУРОВОЇ ТА ЕТОНІЮ

І.Ф. Мещишен, І.М. Яремій, Н.П. Григор'єва, Н.В. Давидова  
БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

*Комбіноване введення білим щурам настоянки ехінацеї та етонію на фоні експериментального токсичного гепатиту впродовж п'яти днів нормалізує вміст малонового діальдегіду та окисномодифікованих білків, а також активність ферментів антиоксидантного захисту в крові тварин, інтоксикованих тетрахлорметаном.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** окиснювальна модифікація білків, перекисне окиснення ліпідів, настоянка ехінацеї пурпурової, етоній, токсичний гепатит, щури, кров.

ВСТУП. Активация у тканинах процесів окиснювальної модифікації білків та перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) є одним із провідних патогенетичних факторів розвитку гепатитів будь-якої етіології. Прогресування хронічних захворювань печінки вимагає як вивчення молекулярних механізмів пошкодження мембран гепатоцита, так і пошуку нових, порівняно недорогих, проте високоефективних гепатопротекторів, зокрема таких, які мали б виражені мембраностабілізуючу та антиоксидантну дії. Раніше було доведено мембраностабілізуючу та антиоксидантну дії етонію [5] і настоянки ехінацеї пурпурової [1].

Метою даного експериментального дослідження було вивчення впливу поєднаної дії настоянки ехінацеї пурпурової та етонію на інтенсивність перебігу процесів окиснювальної модифікації білків та перекисного окиснення ліпідів у крові щурів за умов експериментального токсичного гепатиту.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження проводили на 35 білих безпородних щурах-самцях масою ( $150 \pm 10$ ) г. Тварин утримували на стандартному раціоні віварію з вільним доступом до їжі та води. Експериментальний токсичний гепатит у щурів викликали шляхом дворазового (через день) внутрішньошлункового введення тваринам 50 % олійного розчину тетрахлорметану з розрахунку 0,25 мл на 100 г

маси [5]. Настоянку ехінацеї пурпурової (1:5) вводили тваринам, які попередньо голодували впродовж 12 год, внутрішньошлунково в дозі 0,25 мл/кг маси, етоній у комбінації з настоянкою – в дозі 5 мг/кг. Щурів декапітували під легким ефірним наркозом через 24 год після останнього введення препарату. Кров відбирали при концентрації етилендіамінтетраацетату 1 мг/мл цільної крові. У плазмі крові тварин визначали вміст окисномодифікованих білків (ОМБ) за реакцією з 2,4-динітро-фенілгідразином [6], загальну антиоксидантну активність (АОА) плазми крові – за гальмуванням швидкості утворення малонового діальдегіду (МДА) центрифугатом гомогенату головного мозку [5], вміст церулоплазміну (ЦП) – за модифікованим методом Равіна [3]. В еритроцитах крові визначали вміст МДА за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [7]. У гемолізатах крові визначали активність супероксиддисмутази (СОД) [КФ 1.15.1.1] [2] та каталази [1.11.1.6] [4].

Дослідних тварин було поділено на групи: 1-ша – контроль; 2-га – тварини, інтоксиковані тетрахлорметаном; 3-тя – тварини, яким після інтоксикації тетрахлорметаном вводили настоянку ехінацеї пурпурової (0,25 мл/кг); 4-та – тварини, яким після інтоксикації тетрахлорметаном вводили настоянку ехінацеї пурпурової (0,25 мл/кг) та етоній у дозі 5 мг/кг. Біохімічні показники у крові досліджуваних щурів визначали в динаміці на 5-ту та 7-му доби після відтворення експериментальної моделі та порівнювали з контрольною групою тварин.

© І.Ф. Мещишен, І.М. Яремій, Н.П. Григор'єва, Н.В. Давидова, 2006.

Одержані результати обробляли статистично з використанням t-критерію достовірності Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Інтоксикація тварин тетрахлорметаном супроводжувалась підсиленням процесів окиснювальної модифікації білків та перекисного окиснення ліпідів у крові щурів. Так, вміст ОМБ у плазмі крові інтоксикованих тварин на 5-ту добу після останнього введення тетрахлорметану зріс у середньому в 1,8 раза порівняно з інтактними щурами. Вміст МДА (основного кінцевого продукту ПОЛ) при цьому збільшився в 1,4 раза порівняно з інтактними тваринами (табл. 1). Після отруєння тетрахлорметаном у плазмі крові щурів знизилася загальна антиоксидантна активність плазми крові (на 8 % на 5-ту та на 5 % на 7-му доби експерименту) та спостерігалось підвищення вмісту ЦП (у 1,8 та 1,6 раза відповідно) (табл. 2). У крові інтоксикованих тварин знизилася на 16 % активність СОД і зросла на 41 % активність каталази порівняно з інтактними щурами.

За умов комбінованого введення препаратів етонію та настоянки ехінацеї пурпурової у крові інтоксикованих тетрахлорметаном щурів уже на 5-ту добу після початку введення досліджуваних засобів корекції нормалізувався вміст ОМБ, МДА та показників системи антиоксидантного захисту – СОД, каталази, ЦП і загальної антиоксидантної системи. Вміст продуктів ОМБ та МДА у крові тварин, які на фоні інтоксикації отримували лише настоянку ехінацеї пурпурової, вірогідно не відрізнявся від показників інтоксикованих щурів, які не одержували жодних засобів корекції оксидантно-антиоксидантної рівноваги.

Отже, комбіноване введення настоянки ехінацеї пурпурової (0,25 мл/кг) та етонію (5 мг/кг) інтоксикованим тетрахлорметаном тваринам є ефективнішим щодо нормалізації більшості досліджуваних показників крові щурів порівняно з дією настоянки.

**ВИСНОВКИ.** 1. Експериментальний токсичний гепатит, викликаний внутрішньошлунковим введенням тетрахлорметану, характеризується

Таблиця 1 – Стан окиснювальної системи крові щурів за умов експериментального токсичного гепатиту і комбінованої дії настоянки ехінацеї пурпурової (0,25 мл/кг) та етонію (5мг/кг) ( $M \pm m$ ;  $n=4$ )

| Умови досліджу        |   | Досліджувані показники |              |
|-----------------------|---|------------------------|--------------|
|                       |   | ОМБ, нмоль/мг білка    | МА, мкмоль/л |
| Контроль (1-ша група) |   | 2,0±0,21               | 11,2±0,32    |
| 5-та доба             | Тетрахлорметан (2-га)   | 3,6±0,27*              | 15,7±0,36*   |
|                       | Тетрахлорметан+настоянка ехінацеї (3-тя)                          | 2,8±0,19*              | 13,6±0,21*   |
|                       | Тетрахлорметан+настоянка ехінацеї пурпурової+розчин етонію (4-та) | 2,5±0,18               | 12,1±0,38    |
| 7-ма доба             | Тетрахлорметан (2-га)   | 3,4±0,22*              | 14,2±0,27*   |
|                       | Тетрахлорметан+настоянка ехінацеї пурпурової (3-тя)               | 2,7±0,18*              | 11,8±0,46    |
|                       | Тетрахлорметан+настоянка ехінацеї пурпурової+розчин етонію (4-та) | 2,3±0,16               | 11,43±0,36   |

Примітка. \* – вірогідність різниці показників контрольної та дослідних груп ( $p \leq 0,05$ ).

Таблиця 2 – Показники антиоксидантної системи крові щурів за умов комбінованої дії настоянки ехінацеї пурпурової (0,25 мл/кг) та етонію (5 мг/кг) на тлі експериментального токсичного гепатиту та введення ( $M \pm m$ ;  $n=4$ )

| Умови досліджу        |  | Досліджувані показники |           |             |                       |
|-----------------------|--|------------------------|-----------|-------------|-----------------------|
|                       |  | АОА, %                 | ЦП, мг/л  | СОД, од./мл | Каталаза, мкмоль/хв·л |
| Контроль (1-ша група) |  | 86±1,20                | 182±8,4   | 16,8±0,86   | 19,4±0,96             |
| 5-та доба             | Тетрахлорметан (2-га)                                      | 80±0,86*               | 324±14,0* | 13,2±0,67*  | 27,3±1,23*            |
|                       | Тетрахлорметан+настоянка ехінацеї пурпурової (3-тя)        | 82±0,92*               | 286±13,8* | 14,4±0,71*  | 23,7±0,87*            |
|                       | Тетрахлорметан+настоянка ехінацеї пурпурової+етонію (4-та) | 84±1,36                | 208±18,4  | 15,8±1,04   | 21,2±1,06             |
| 7-ма доба             | Тетрахлорметан (2-га)                                      | 82±1,23*               | 292±17,3* | 14,8±0,81*  | 25,8±0,91*            |
|                       | Тетрахлорметан+настоянка ехінацеї пурпурової (3-тя)        | 85±0,86                | 246±12,8* | 15,2±0,94   | 20,7±1,14             |
|                       | Тетрахлорметан+настоянка ехінацеї пурпурової+етонію (4-та) | 85±1,14                | 196±21,3  | 16,3±1,02   | 19,8±0,84             |

Примітка: \* – вірогідність різниці контрольної та дослідних груп тварин за досліджуваним показником ( $p \leq 0,05$ ).



посиленням перекисного окиснення ліпідів, окиснювальної модифікації білків та зниженням загальної антиоксидантної активності плазми крові.

2. Поєднане введення тваринам настоянки ехінацеї пурпурової та етонію на фоні експериментального токсичного гепатиту впродовж п'яти днів сприяє нормалізації всіх досліджуваних показників крові.

#### ЛІТЕРАТУРА

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

2. Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А., Ефимова Л.Ф. Активность и изоферментный спектр супероксид-дисмутазы эритроцитов и плазмы крови // Лаб. дело. – 1983. – № 10. – С. 30-33.

3. Камышников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: Справочник. – Минск: Беларусь, 2003. – Т. 2. – 463 с.

4. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб.

дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.

5. Мецишен И.Ф. Механизм действия четвертичных аммониевых соединений (этония, тиония, додекония и их производных) на обмен веществ в норме и патологии: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – К., 1991. – 37 с.

6. Мецишен І.Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // Буков. мед. вісник. – 1998. – 2, № 1. – С. 156-158.

7. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С.66-68.

## ИНТЕНСИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ И ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В КРОВИ КРЫС ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ И КОМБИНИРОВАННОМ ДЕЙСТВИИ НАСТОЙКИ ЭХИНАЦЕИ ПУРПУРНОЙ И ЭТОНИЯ

**И.Ф. Мецишен, И.Н. Яремий, Н.Ф. Григорьева, Н.В. Давыдова**  
БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

#### Резюме

*Комбинированное введение белым крысам настойки эхинацеи и этония на фоне экспериментального токсического гепатита в течение пяти дней нормализует содержание малонового диальдегида, окислительно-модифицированных белков, а также активность ферментов антиоксидантной защиты в крови интоксцированных тетрахлорметаном животных.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** окислительная модификация белков, перекисное окисление липидов, настойка эхинацеи пурпурной, этоний, токсический гепатит, крысы, кровь.

## OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS AND LIPID PEROXIDATION ACTIVITIES IN RAT BLOOD AT THE TOXIC HEPATITIS AND COMBINED ACTION OF TINCTURE OF ECHINACEA AND AETHONIUM

**I.F. Meshchysen, I.M. Yaremiy, N.P. Grygoryeva, N.V. Davydova**  
BUCOVYNIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

#### Summary

*Combined administration of Echinacea tincture and aethonium to albino rat during 5 days in case of experimental toxic hepatitis normalized contents of malonic aldehyde, oxidative modification of proteins and antioxidative enzymes activity in blood of the intoxicated animals.*

**KEY WORDS:** oxidative modification of proteins, lipid peroxidation tincture of echinacea, aethonium, toxic hepatitis, rats, blood.

*Адреса для листування: І.Ф. Мецишен, Буковинський державний медичний університет, Чернівці, Україна.*

## ВПЛИВ L-АРГІНІНУ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ТРОМБОЦИТІВ ЗА УМОВ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Н.В. Ільчишин, Е.Г. Телеш, Н.О. Сибірна  
Львівський національний університет ім. Івана Франка

*Показано, що за умов алкогольної інтоксикації відбувалося інгібування агрегаційної здатності тромбоцитів. Введення L-аргініну призводило до зниження агрегаційної здатності кров'яних пластинок у нормі, натомість при модельній алкогольній інтоксикації L-аргінін проявляв позитивний коригувальний вплив на функціональні властивості тромбоцитів.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** тромбоцити, алкогольна інтоксикація, агрегація.

**ВСТУП.** Дія етанолу на організм призводить до змін у багатьох системах та органах, оскільки він бере участь у найважливіших процесах життєдіяльності [6].

На даний час активно досліджують різноманітні аспекти біологічної дії оксиду азоту (NO), унікальної сполуки, яка відіграє роль фізіологічного месенджера, а за деяких умов набуває ознак цитотоксичної ефекторної молекули. Відомо, що основні пошкоджувальні ефекти алкогольної інтоксикації є наслідками дії токсичних інтермедіатів, що утворюються у процесі біотрансформації алкоголю. Отримано ряд експериментальних даних, які вказують на те, що зміни в інтенсивності синтезу NO опосередковують певні аспекти прояву алкогольної інтоксикації. Тому NO-залежна система регуляції морфофункціонального стану різних клітин організму є важливою мішенню, щоб розробити терапевтичні засоби для лікування алкоголізму та наслідків хронічної алкогольної інтоксикації.

Що стосується ефекту алкоголю на тромбоцитарну функцію, дані літератури є досить неоднозначними. Одні джерела свідчать про наявність активації [3, 9], інші – інгібування [10] функціональної активності тромбоцитів етанолом.

З'ясування всіх нових аспектів біологічної ролі NO призвело до формування гіпотези про генерацію оксиду азоту як стреслімітувальну систему. Активація цієї NO-ергічної системи

© Н.В. Ільчишин, Е.Г. Телеш, Н.О. Сибірна, 2006.

ґрунтується на здатності оксиду азоту лімітувати ключові ланки стрес-реакції та посилювати ендогенні захисні системи організму. Тому фармакологічна "імітація" активації цієї ланки регуляції шляхом введення донора NO (L-аргініну) може забезпечити ефективний антистресорний захист та підвищити адаптаційні можливості організму [4, 5].

Метою даної роботи було дослідити вплив L-аргініну як основного субстрату NO-синтази на функціональний стан тромбоцитів у нормі та за умов модельної алкогольної інтоксикації.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження проводили на щурах-самцях лінії Вістар масою 220-290 г. Тваринам забезпечували вільний доступ до їжі та води з перебуванням у стандартних умовах (12-годинна зміна світла і темряви). Моделювали хронічну алкогольну інтоксикацію шляхом щоденного інтрагастрального введення алкоголю у дозі 6 г/кг маси тіла протягом 14 днів [1, 2]. Контрольним щурам вводили ізокалоричний розчин глюкози у дозі 10,2 г/кг. L-аргінін ("Reanal", Угорщина) вводили per os з питною водою у концентрації 1,25 г/л протягом 14 днів. Для отримання багатой на тромбоцити плазми еритроцити та лейкоцити осаджували шляхом центрифугування при 1000 об./хв протягом 10 хв. Підрахунок кількості тромбоцитів у плазмі проводили уніфікованим методом у камері Горяєва [7]. Дослідження агрегації тромбоцитів виконували на двоканальному лазерному аналізаторі

агрегації "Біола" (Росія), індуктор агрегації АДФ (10 мкМ).

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Показано, що за умов хронічної алкогольної інтоксикації значною мірою пригнічувалася агрегаційна здатність тромбоцитів (табл. 1). Дана тромбоцитопатія із зниженою здатністю тромбоцитів до агрегації може бути пояснена послабленням чутливості їх рецепторного апарату до агрегуювальних агентів.

При введенні L-аргініну контрольним тваринам спостерігалось зниження агрегаційної здатності кров'яних пластинок. За цих умов генерувалася додаткова кількість NO, тому агрегаційна здатність послаблювалася, оскільки

оксид азоту взаємодіяв з Fe<sup>2+</sup> гему розчинної гуанілатциклази, утворюючи комплекс "нітрозил-гем", який є активатором цього ферменту. цГМФ у тромбоцитах знижував концентрацію іонів кальцію, що, власне, і було сигналом до дезагрегації кров'яних пластинок.

За умов алкогольної інтоксикації ми спостерігали іншу ситуацію. Введення аргініну зумовлювало підвищення агрегаційної здатності до значень, які збігались із контрольними. Імовірно, такий ефект можна пояснити інгібуванням активності NO-синтази за принципом негативного зворотного зв'язку, адже NO має здатність зв'язуватися з гемовою групою ферменту, знижуючи тим самим його активність.

Таблиця 1 – **Зміни досліджуваних показників при введенні L-аргініну щурам у нормі та за умов алкогольної інтоксикації (M±m, n=10-12)**

| Групи                        | Показники агрегації     |                  |                        |
|------------------------------|-------------------------|------------------|------------------------|
|                              | Ступінь агрегації, в.о. | Час агрегації, с | Розмір агрегатів, в.о. |
| Контроль (К)                 | 78,6±2,7                | 261,7±14,5       | 2,57±0,45              |
| К+L-аргінін                  | 68,5±3,3*               | 273,0±12,3       | 3,21±0,20*             |
| Алкогольна інтоксикація (АІ) | 43,0±3,4*               | 321,25±13,14*    | 2,2±0,10               |
| АІ+L-аргінін                 | 57,3±1,45**             | 298,0±15,67**    | 2,91±0,17**            |

Примітка. \* – різниця вірогідна порівняно з контролем (p<0,05);

\*\* – різниця вірогідна порівняно з алкогольною інтоксикацією (p<0,05).

Час агрегації при введенні L-аргініну збільшувався в алкоголізованих щурів відносно контролю в 1,1 раза (див. табл. 1).

Адаптаційні механізми опосередковані низкою NO-залежних ефектів [4, 5]. Ефекти донорів NO, які зумовлюють депонування останнього в стінках судин (у вигляді низько-та високомолекулярних нітрозотіолів, у формі нітрозогемоглобіну або S-нітрозогемоглобіну), повністю відтворюють ефекти адаптації. Механізми захисної дії депо NO пов'язані з обмеженням активності та/або експресії NOS за механізмом негативного зворотного зв'язку або вилученням надлишку активного NO. Найімовірніше, такий компенсаторний механізм

існує не стільки для захисту організму при екстрених станах, скільки для попередження токсичного впливу NO, який зростає за умов розвитку патології. При введенні L-аргініну контрольним тваринам ми можемо припустити, що такі депо оксиду азоту утворювалися, але за умов алкогольної інтоксикації на фоні введення субстрату NO-синтази відбувалося їх вивільнення як прояв адаптаційного захисту організму [8].

**ВИСНОВОК.** Ми можемо стверджувати, що введення L-аргініну, основного субстрату NO-синтази, мало коригувальний ефект на функціональні властивості тромбоцитів при досліджуваній патології.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Буров Ю.В. Ведерникова Н.Н. Нейрохимия и фармакология алкоголизма. – М.: Медицина, 1985. – С. 5-72.
2. Буров Ю.В., Власова Н.В. Фармакинетика этанола в крови крыс на разных стадиях хронической алкоголизации // Вопр. мед. хим. – 1983. – № 6. – С.24.
3. Губергриц Н.Б., Лобас Е.В. Патогенетическое обоснование и эффективность цитраргинина при

лечении сочетанных алкогольных заболеваний печени и поджелудочной железы // Сучасна гастроентерологія. – 2003. – **14**, № 4. – С. 59-62.

4. Зинчук В.В. Участие оксида азота в формировании кислородсвязывающих свойств гемоглобина // Усп. физиол. наук. – 2003. – **34**, № 2. – С. 33-45.

5. Марков Х.М. О биорегуляторной системе L-аргинин – окись азота // Пат. физиол. и exper.

терап. – 1996. – № 1. – С. 35-39.

6. Марченко О., Гаврик Л., Остапенко Л. Токсична дія етанолу та його продуктів на організм // Вісн. НАН України. – 2006. – № 3. – С. 57-64.

7. Сибірна Н.О., Великий М.М. Цитологічні та фізико-хімічні методи дослідження крові: Методичний посібник. – Львів: ЛДУ, 1997. – 69 с.

8. Токарева Л.В., Сибірна Н.О., Великий М.М. Участь різних ізоформ NO-синтази в регуляції мета-

болізму азоту при стрептозотоциновому діабеті // Лаб. діагностика. – 2001. – № 4. – С. 22-25.

9. Фадеенко Г.Д., Виноградова С.В. Влияние алкоголя на развитие сердечно-сосудистой патологии. Роль генетических факторов // Укр. терапевт. журн. – 2006. – № 1. – С. 93-100.

10. Zoucas E., Bendgmark S. Effect of acetaldehyde on rat platelet aggregation in vivo and in vitro // Res. Exp. Med. – 1987. – 1, № 187. – P. 43.

## ВЛИЯНИЕ L-АРГИНИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

**Н.В. Ильчишин, Э.Г. Телеш, Н.А. Сибирная**  
Львовский национальный университет им. Ивана Франко

### Резюме

*Показано, что в условиях алкогольной интоксикации происходило ингибирование агрегационной способности тромбоцитов. Введение L-аргинина вызывало снижение агрегационной способности кровяных пластинок в норме, тогда как при модельной алкогольной интоксикации L-аргинин проявлял позитивное корректирующее влияние на функциональные свойства тромбоцитов.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** тромбоциты, алкогольная интоксикация, агрегация.

## EFFECT OF L-ARGININE ON THE FUNCTIONAL STATE OF PLATELETS UNDER ALCOHOL INTOXICATION

**N.V. Ilchyshyn, E.H. Telesh, N.O. Sybirna**  
LVIV NATIONAL UNIVERSITY BY IVAN FRANKO

### Summary

*The inhibition of platelet aggregation under conditions of alcohol intoxication was shown. L-arginine injection is accompanied with decrease of platelet aggregation ability under normal conditions. The obtained data demonstrated that L-arginin possesses positive correcting effects on the functional properties of platelets under alcohol intoxication.*

**KEY WORDS:** platelets, alcohol intoxication, aggregation.

Отримано 05.03.2006 р.

**Адреса для листування:** Н.В. Ильчишин, вул. Творча, 14, кв. 4, Львів, 79037, Україна.

## ВПЛИВ ПОЄДНАНОЇ ДІЇ МЕТАЛОКОМПЛЕКСУ ГІСТИДИНАТУ МІДІ ТА ЕНТЕРОСОРБЕНТУ "ФІБРАБЕТ" НА ПОКАЗНИКИ БІЛКОВОГО ОБМІНУ ЗА УМОВ УРАЖЕННЯ ХЛОРИДОМ КАДМІЮ ТА НІТРИТОМ НАТРІЮ НА ТЛІ РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ

Я.І. Гонський, О.І. Острівка

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

*Вивчено потенціювання негативного впливу досліджуваних токсикантів на показники антиоксидантної системи, що призвело до зростання ендогенної інтоксикації і порушення проникності плазматичних мембран.*

*Введення металокомплексу гістидинату міді та ентеросорбенту "Фібрабет" викликало покращання цих показників у крові й печінці отруєних тварин.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** поєднана дія, гістидинат міді, ентеросорбент "Фібрабет", хлорид кадмію, нітрит натрію, рентгенівське опромінення, білковий обмін.

ВСТУП. Забруднення довкілля нітратами, нітридами, солями важких металів і різними радіонуклідами після аварії на Чорнобильській АЕС робить актуальним вивчення механізмів впливу вищевказаних факторів на організм при їх роздільній та комбінованій діях [3].

Нітриди відносять до основних азотовмісних забруднювачів довкілля, які становлять реальну небезпеку для здоров'я людини. Першою мішенню для їх токсичної дії на організм є кров та печінка. За гострої нітритної інтоксикації розвиваються метгемоглобінемія, гемічна гіпоксія та токсичний гепатоз. У патогенезі інтоксикацій нітратами значна роль належить ПОЛ, окиснювальній модифікації білків (ОМБ) і захисним системам організму [4, 5, 15].

Іони важких металів навіть у мікродозах можуть спричинити небезпечні ураження чутливих анатоμο-фізіологічних систем і розвиток патологічних станів. Особливо небезпечним металом є кадмій, який характеризується великою міграційною швидкістю, біохімічною активністю і здатністю кумулюватися в органах і тканинах.

Дані літератури свідчать про політропність токсичної дії кадмію, високу чутливість до його впливу клітин червоної крові, печінки та нирок, його мутагенну та канцерогенну активність, здатність іонів кадмію активувати процеси ПОЛ [3, 8, 9, 13].

Однією з причин серйозних біологічних та медичних наслідків Чорнобильської аварії є тривалий вплив радіації низької інтенсивності [2, 10]. Іонізуюче випромінювання в малих дозах здійснює прямий негативний ефект на всі системи організму з посиленням патологічних змін внаслідок взаємодії декількох патологічних механізмів, таких, як високий ступінь розвитку метаболічного ацидозу, ендогенної інтоксикації, маніфестації вільнорадикальних процесів на тлі виснаження антиоксидантного захисту, значна активація протеолітичної системи.

Для боротьби з проявами ендогенної інтоксикації за умов отруєння ксенобіотиками, а також дії іонізуючого випромінювання застосовують ентеросорбенти. Велика токсичність ксенобіотиків, яка супроводжується цілим рядом порушень, зумовила пошук нових терапевтичних засобів з антиоксидантними властивостями [1, 7]. За останні роки значно підвищилася увага до металів змінної валентності та металовмісних комплексів. Шляхом підвищення біодоступності та нешкідливості металовмісних середників може бути заміна іонних сполук мікроелементів їх комплексами з органічними лігандами, зокрема амінокислотами [6].

Метою нашого дослідження було вивчення антиоксидантної активності гістидинату міді й ентеросорбенту "Фібрабет" на деякі показники білкового обміну, що характеризують активність процесів детоксикації в організмі білих

щурів за умов комбінованого впливу натрію нітриту та кадмію хлориду на тлі рентгенівського опромінення.

**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 ( $1/15 LD_{50}$ ), нітрит натрію – у дозі 70 мг/кг ( $1/3 LD_{50}$ ). Одноразове опромінювання проводили за допомогою рентгенівського апарату РУМ-17 у дозі 0,5 Гр (напруга – 40 кВ, сила струму – 80 мА, фільтри – 0,5 мм Cu та Zn, шкірно-фокусна відстань – 40 см, потужність дози – 1 Р/с).

З метою корекції метаболічних порушень тварини щодоби, починаючи з першого дня введення токсикантів, одержували внутрішньошлунково ентеросорбент "Фібрабет" у дозі 1 г/кг та гістидинат міді в дозі 0,94 мг/кг (біотична доза міді в крові). Металокомплекс синтезовано нами на кафедрі медичної хімії з гістидину та гідроксиду міді, які брали в еквімолярних концентраціях.

Піддослідних тварин поділили на 3 групи: 1-ша – інтактні (контроль); 2-га – комбіноване ураження хлоридом кадмію та нітритом натрію після опромінення низькими дозами радіації; 3-тя – уражені тварини, яким проводили

корекцію ентеросорбентом "Фібрабет" та гістидинатом міді. 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 [11]. Для оцінки ендогенної інтоксикації визначали вміст молекул середньої маси у плазмі крові  $CM_1$  і  $CM_2$ , як описано у роботі [14]. Функціональний стан плазматичних мембран оцінювали за активністю АсАТ і АлАТ [12] у сироватці крові та гомогенаті печінки.

Отримані результати піддавали статистичній обробці з використанням критерію Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Нітрит натрію та хлорид кадмію на тлі рентгенівського опромінення, як виразно токсичні ксенобіотики, викликали вторинну ендогенну інтоксикацію організму. Ведення їх в організм одночасно поглиблювало інтоксикацію, оскільки кожен з цих чинників спричиняє додаткове утворення токсинів, сприяє деструкції клітинних мембран. Основними маркерами ендогенної інтоксикації є молекули середньої маси, які у великій кількості утворюються в процесі пошкодження білків, пептидів та нуклеотидів. Нами відмічено підвищення вмісту молекул середньої маси в сироватці крові протягом усього експерименту. Після поєднаного введення ентеросорбенту "Фібрабет" та гістидинату міді в отруєних

Таблиця 1 – Поєднаний вплив металокомплексу гістидинату міді та ентеросорбенту "Фібрабет" на показники білкового обміну за умов ураження хлоридом кадмію та нітритом натрію на тлі рентгенівського опромінення ( $M \pm m$ )

| Показник  | Біологічна рідина | Інтактні, n=6 | Уражені хлоридом кадмію та нітритом натрію на фоні рентгенівського опромінення, n=18 |              |              | Уражені тварини, кориговані гістидинатом міді та ентеросорбентом "Фібрабет" |               |               |
|---|-------------------|---------------|--|--------------|--------------|---|---------------|---------------|
|   |                   |               | 1 доба   | 3 доба       | 5 доба       | 1 доба  | 3 доба        | 5 доба        |
| ЦП, мг·л <sup>-1</sup>                          | Плазма крові      | 230,1±7,2     | 158,3±7,3*   | 142,3±8,2*   | 130,3±6,9*   | 141,3±8,0 #   | 172,2±6,3 #   | 210,0±7,2 #   |
| $CM_1$ , ум.од.                                 | Плазма крові      | 0,286±0,006   | 0,398±0,005*   | 0,423±0,003* | 0,398±0,005* | 0,416±0,004 #   | 0,320±0,006 # | 0,294±0,005 # |
| $CM_2$ , ум.од.                                 | Плазма крові      | 0,052±0,003   | 0,070±0,004*   | 0,080±0,005* | 0,095±0,005* | 0,082±0,003 #   | 0,075±0,005 # | 0,060±0,005 # |
| АлАТ, моль·год <sup>-1</sup> ·л <sup>-1</sup>   | Плазма крові      | 0,28±0,04     | 0,32±0,03*   | 0,40±0,04*   | 0,45±0,03*   | 0,40±0,03 #   | 0,34±0,04 #   | 0,30±0,03 #   |
| АлАТ, ммоль·год <sup>-1</sup> ·кг <sup>-1</sup> | Гомогенат печінки | 1,22±0,04     | 1,38±0,05*   | 1,59±0,06*   | 1,72±0,05*   | 1,52±0,05 #   | 1,38±0,06 #   | 1,28±0,05 #   |
| АсАТ, ммоль·год <sup>-1</sup> ·л <sup>-1</sup>  | Плазма крові      | 0,20±0,05     | 0,25±0,04*   | 0,30±0,04*   | 0,32±0,05*   | 0,30±0,04 #   | 0,26±0,04 #   | 0,25±0,05 #   |
| АсАТ, ммоль·год <sup>-1</sup> ·кг <sup>-1</sup> | Гомогенат печінки | 1,18±0,03     | 1,39±0,04*   | 1,50±0,03*   | 1,55±0,05*   | 1,42±0,04 #   | 1,30±0,03 #   | 1,21±0,06 #   |

Примітка. \* – різниця достовірна відносно інтактних тварин ( $p < 0,05$ ); # – різниця достовірна відносно уражених тварин ( $p < 0,05$ ).

тварин, найбільше на 5-ту добу, вміст  $SM_1$  і  $SM_2$  наближався до рівня інтактних: відповідно,  $SM_1$  на 18 % і  $SM_2$  на 25 % (табл. 1).

Поєднана дія ксенобіотиків призводила до достовірного зниження досліджуваного компонента антиоксидантної системи – церулоплазміну (ЦП) на 57,8 % від аналогічних показників у здорових тварин на 5-й день отруєння. Введення ентеросорбенту “Фібрабет” і гістидинату міді на фоні інтоксикації даними ксенобіотиками сприяло нормалізації ЦП. Спостерігалось збільшення його вмісту на 33,6 % на 5-й день експерименту відносно уражених щурів (див. табл. 1).

У лікованих ентеросорбентом “Фібрабет” та гістидинатом міді тварин мало місце системне зниження концентрації токсичних речовин, що впливають на стан плазматичних мембран. Про це свідчить достовірне зниження у плазмі крові активності амінотрансфераз, причому активність АлАТ зменшувалася інтенсивніше (до 70,4 %) від рівня уражених, ніж

АсАТ (до 58,4 %), в гомогенаті – АлАТ на 85,2 % і АсАТ на 74,7 % (див. табл. 1).

Аналізуючи отримані результати, можна констатувати, що ентеросорбент “Фібрабет” та гістидинат міді при їх спільній дії знижують вираження токсичного синдрому, стабілізують проникність плазматичних та лізосомальних мембран печінки, проявляють виражений позитивний вплив на процеси вільнорадикального окиснення та вміст білкових компонентів мембран у сироватці крові й гомогенаті печінки.

**ВИСНОВОК.** Поєднаний вплив ентеросорбенту “Фібрабет” та гістидинату міді проявляє дезінтоксикаційні, мембраностабілізуючі властивості, знижує вираження синдрому ендогенної інтоксикації (зменшення вмісту молекул середньої маси), що дає підставу вважати можливим застосування такої комбінації засобів при токсичних ураженнях печінки.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Андрейчин М.А., Гнатюк М.С. Энтеросорбенти как засіб очищення організму. – К.: Знання, 1992. – 48 с.
2. Барабой В.А., Олійник С.А., Хмелевський Ю.В. Стан антиоксидантної системи за дії іонізуючої радіації у низьких дозах та низької інтенсивності // Укр. біохім. журнал. – 1994. – **66**, № 4. – С. 3-29.
3. Губский Ю.И., Долго-Сабуров В.Б., Храпак В.В. Химические катастрофы и экология. – К.: Здоров'я, 1993. – 224 с.
4. Дерягина В.П., Жукова Г.Ф., Хотимченко С.А. Содержание в продуктах питания нитратов и нитритов и оценка их поступления с суточным рационом // Вопр. пит. – 1993. – № 4. – С. 47-52.
5. Журавлева В.Ф., Цапков М.М. Токсичность нитратов и нитритов // Гигиена и санитария. – 1983. – № 1. – С. 62-65.
6. Западнюк В.И., Купраш Л.П., Заика М.И., Безверхая И.С. Аминокислоты в медицине. – К.: Здоров'я, 1982. – 198 с.
7. Земсков В.С., Шор-Чудновский М.Е., Кортель Н.Т. О возможном механизме лечебного эффекта энтеросорбции // Клин. хирургия. – 1988. – № 3. – С.61-62.
8. Ерстенюк Г.М. Стан лігандних форм гемоглобіну у щурів за умов кадмієвої інтоксикації // Мед. хімія. – 2004. – **3**, № 6. – С.101-103.

9. 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.
10. Кірпенко Т.О., Остапченко Л.І. Вплив іонізуючого опромінення на системи білкового фосфорилування у клітині //Укр. радіол. журн. – 1993. – № 7. – С. 184-187.
11. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – 311 с.
12. Методические указания по применению унифицированных клинических лабораторных методов исследования / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1973. – 245 с.
13. Михалева Л.М. Патологическая анатомия экспериментальной интоксикации, вызванной хлоридом кадмия: Автореф. дис...канд. мед. наук: 14.00.15. – М., 1990. – 31 с.
14. Оськина В.В., Чекалина К.И., Габриэлян Н.И. Среднемолекулярные пептиды спинномозговой жидкости при гнойных менингитах // Лаб. дело. – 1987. – № 2. – С. 23-25.
15. Шугалей И.В., Целинский И.В., Малинина Т.В. О токсическом действии нитрита натрия // Гигиена и санитария. – 1991. – № 4. – С. 49-53.

# ВЛИЯНИЕ СОВМЕШНОГО ДЕЙСТВИЯ МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСА ГИСТИДИНАТА МЕДИ И ЭНТЕРОСОРБЕНТА "ФИБРАБЕТ" НА ПОКАЗАТЕЛИ БЕЛКОВОГО ОБМЕНА ПРИ ПОРАЖЕНИИ ХЛОРИДОМ КАДМИЯ И НИТРИТОМ НАТРИЯ НА ФОНЕ РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ

Я.И. Гонский, О.И.Остривка

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я.ГОРБАЧЕВСКОГО

## Резюме

*Изучено потенцирование отрицательного действия исследуемых токсикантов на показатели антиоксидантной системы, что привело к возрастанию эндогенной интоксикации и нарушению проницаемости плазматических мембран. Введение металлокомплекса гистидината меди и энтеросорбента "Фибрабет" вызвало улучшение этих показателей в крови и печени отравленных животных.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** совместное действие, гистидинат меди, энтеросорбент "Фибрабет", хлорид кадмия, нитрит натрия, рентгеновское облучение, белковый обмен.

# THE EFFECT OF COMBINED ACTION OF METAL COMPLEX OF COPPER HISTIDINATE AND ENTEROSORBENT "FIBRABET" ON INDICES OF PROTEIN METABOLISM AFTER ACTION OF CADMIUM CHLORIDE AND SODIUM NITRATE AGAINST THE BACKGROUND OF RADIOACTIVITY

Ya.I. Honsky, O.I. Ostrivka

TERNOPI L STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA.HORBACHEVSKY

## Summary

*Intensification of negative action of explored toxic matters on the indices of antioxidant system, that resulted in the increase of endogenous intoxication and violation of permeability of plasmatic membranes.*

*Administration of metal complex of copper histidinate and enterosorbent "Fibrabet" caused normalization of these indices in blood and liver of poisoned animals.*

**KEY WORDS:** combined action, copper histidinate, enterosorbent "Fibrabet", cadmium chloride, sodium nitrate, radioactivity, protein metabolism.

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



## РОЛЬ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У МЕХАНІЗМАХ ПЛАСТИЧНОСТІ МОЗКУ, ЗУМОВЛЕНОЇ ПРЕНАТАЛЬНИМ СТРЕСОМ

О.В. Ткачук, В.Ф. Мислицький, С.С. Ткачук, І.Р. Тимофійчук, Л.О. Філіпова  
БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

*Досліджено роль процесів ліпопероксидації та антиоксидантного захисту в механізмах пластичності мозку. Встановлено, що пренатальний стрес програмує знижену реакцію глутатіонпероксидази лімбіко-гіпоталамічних структур мозку на гострий іммобілізаційний стрес.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** ліпопероксидація, антиоксидантний захист, пластичність мозку, пренатальний стрес.

ВСТУП. Вільнорадикальні реакції відіграють важливу роль у пластичних перебудовах клітин, необхідних для пристосування до змін довкілля, завдяки тому, що активні форми кисню виконують функції вторинних месенджерів, здатних викликати експресію генів, модуляцію активності протейніназ і впливати на функціональну активність клітин [1]. Процеси ліпопероксидації сприяють швидкій зміні складу і будови ліпідів мембран, приведенню їх молекулярної організації у відповідність із новими вимогами до функціональних властивостей мембран [2].

Завдяки структурній та функціональній пластичності мозку деякі епігенетичні чинники, зокрема пренатальний стрес, можуть впливати на генетичну програму його розвитку [4, 5, 6]. Тому природно очікувати, що ті зміни, які відбуваються в мозку під впливом пренатальних стресорів і розглядаються як прояви його пластичності, певною мірою зумовлені вільнорадикальними процесами.

Ми поставили за мету дослідити стан прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в тих структурах мозку щурів-самців із синдромом пренатального стресу, які зазнають довготривалих функціональних модифікацій.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження проведено на тримісячних щурах-самцях, матері яких протягом останнього триместру вагітності щоденно зазнавали одногодинного жорсткого іммобілізаційного стресу. В гомо-

© О.В. Ткачук, В.Ф. Мислицький, С.С. Ткачук, І.Р. Тимофійчук, Л.О. Філіпова, 2006.

генатах тканин перегородки, мигдалеподібного комплексу мозку, преоптичної ділянки та медіо-базального гіпоталамуса тварин контрольної та дослідної груп визначали вміст дієнових кон'югатів (ДК), малонового діальдегіду (МДА), активність супероксиддисмутази (СОД), глутатіонпероксидази (ГПО) [3]. З метою виявлення прихованих імпринтингових порушень, які реалізуються при функціональних навантаженнях, частину тримісячних щурів контрольної та дослідної груп піддавали дії гострого одногодинного іммобілізаційного стресу.

Вірогідність змін оцінювали за t-критерієм Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Нами встановлено, що у всіх структурах мозку інтактних щурів іммобілізаційний стрес викликав активацію процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), яка проявлялась підвищенням вмісту ДК, МДА чи обох показників. Менш стабільні зміни активності ферментів антиоксидантного захисту були наявні в половині випадків (табл. 1).

На особливу увагу заслуговують питання стресорних порушень прооксидантно-антиоксидантних взаємозв'язків при синдромі пренатального стресу, позаяк оксидативний стрес під час вагітності призводить до незворотної оксидації макромолекул ембріональних клітин [9], а виснаження антиоксидантної системи в ембріональних нейронах, так само як оксидативний стрес, спричиняє прискорений розвиток клітинної смерті шляхом апоптозу [8].

Таблиця 1 – Вплив іммобілізаційного стресу на вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку інтактних та пренатально стресованих щурів ( $M \pm m$ ;  $n=8$ )

| Характер впливу                       | Вміст                    |                           | Активність ферментів       |                             |
|---------------------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|
|                                       | ДК,<br>нмоль/мг<br>білка | МДА,<br>нмоль/мг<br>білка | СОД,<br>од./хв/мг<br>білка | ГПО,<br>моль/хв/мг<br>білка |
| перегородка мозку                     |                          |                           |                            |                             |
| Контроль                              | 23,0±0,9                 | 3,85±0,17                 | 6,13±0,30                  | 3,99±0,23                   |
| Іммобілізація контрольних             | 27,5±1,20*               | 4,35±0,12*                | 5,53±0,12*                 | 4,11±0,30                   |
| Пренатальний стрес                    | 22,6±0,71                | 3,65±0,20                 | 5,9±0,20                   | 3,42±0,2*                   |
| Іммобілізація пренатально стресованих | 25,9±1,61^               | 3,92±0,24                 | 4,06±0,15^                 | 3,70±0,21                   |
| преоптична ділянка                    |                          |                           |                            |                             |
| Контроль                              | 21,0±1,30                | 3,6±0,20                  | 5,6±0,21                   | 5,26±0,31                   |
| Іммобілізація контрольних             | 24,3±1,10*               | 3,86±0,13                 | 6,17±0,20*                 | 4,98±0,23                   |
| Пренатальний стрес                    | 20,4±0,91                | 3,56±0,13                 | 6,02±0,18                  | 3,66±0,18*                  |
| Іммобілізація пренатально стресованих | 23,6±0,73^               | 4,1±0,22^                 | 5,36±0,15^                 | 4,01±0,23                   |
| медіобазальний гіпоталамус            |                          |                           |                            |                             |
| Контроль                              | 22,4±0,56                | 3,8±0,17                  | 5,35±0,41                  | 3,7±0,30                    |
| Іммобілізація контрольних             | 24,4±1,70                | 6,6±0,36*                 | 6,11±0,30                  | 4,1±0,70                    |
| Пренатальний стрес                    | 21,3±0,90                | 3,4±0,21                  | 5,36±0,11                  | 3,8±0,33                    |
| Іммобілізація пренатально стресованих | 23,9±0,31^               | 4,8±0,25^                 | 5,02±0,12^                 | 3,51±0,23                   |
| мигдалеподібний комплекс              |                          |                           |                            |                             |
| Контроль                              | 22,9±0,62                | 3,57±0,25                 | 6,43±0,31                  | 4,28±0,33                   |
| Іммобілізація контрольних             | 24,4±0,45*               | 3,87±0,18                 | 5,97±0,42                  | 4,62±0,29                   |
| Пренатальний стрес                    | 21,8±0,41                | 3,42±0,22                 | 6,81±0,29                  | 3,42±0,26*                  |
| Іммобілізація пренатально стресованих | 23,7±0,75^               | 3,29±0,31                 | 5,62±0,33^                 | 4,01±0,32                   |

Примітка. \* ...^ – вірогідність змін стосовно показників у інтактних та пренатально стресованих тварин відповідно. У решті випадків зміни не достовірні.

За результатами наших досліджень, про-оксидантно-антиоксидантні взаємозв'язки у тварин із пренатальним стрес-синдромом відзначаються стабільним зниженням конститутивної та відсутністю стресіндукованої активності ГПО. Це свідчить про стійкий інактиву-ючий вплив пренатального стресу щодо цього антиоксидантного ферменту, позаяк відомо, що надлишок супероксиданіона, який має місце під час стресу, може викликати незворотне пошкодження ряду ферментів за рахунок окиснення сульфгідрильних груп, триптофану, інгібуючи активність ГПО, каталази, ряду мембранозв'язаних ферментів [2]. Ці внутрішньо-утробні зміни за рахунок імпринтингових процесів можуть залишатися довічно, про що свідчать дослідження W.D. Graf et al. [7].

На основі виявлених порушень активності п'яти антиоксидантних ензимів (ГПО, глутатіон-редуктази, глутатіон-S-трансферази, каталази та СОД) у 37 дітей з місломенінгоцеле автора-

ми зроблено висновок про можливість внутрішньоутробного пошкодження ферментів метаболізму глутатіону вільними радикалами, яке зберігається протягом постнатального життя.

Отримані дані свідчать про те, що пренатальний стрес змінює генетичну програму реагування глутатіонпероксидази на гострий іммобілізаційний стрес, а вільнорадикальним процесам належить важлива роль у механізмах пластичності незрілого мозку.

**ВИСНОВКИ.** 1. Іммобілізація контрольних тварин посилює процеси перекисного окиснення ліпідів у структурах мозку при одночасному зростанні активності ферментів антиоксидантного захисту.

2. Пренатальний стрес послаблює антиоксидантний захист шляхом зниження активності глутатіонпероксидази, про стійку інактив-ацію якої свідчить відсутність стресіндукованої реакції ферменту.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Аврова Н.Ф. Биохимические механизмы адаптации к изменяющимся условиям среды у позвоночных: роль липидов // Журн. эволюц. биохимии и физиол. – 1999. – **35**, № 3. – С. 170-180.
2. Болдырев А.А. Роль активных форм кислорода в жизнедеятельности нейрона // Усп. физиол. наук. – 2003. – **34**, № 3. – С. 21-34.
3. Магальяс В.М., Міхеев А.О., Роговий Ю.Є. та ін. Сучасні методи експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії. – Чернівці, 2001. – 42 с.
4. Носенко Н.Д., Резников А.Г. Половая дифференциация мозга как проявление его пластичности // Нейрофизиол. – 2001. – **33**, № 2. – С. 141-150.
5. Резников А.Г., Пишак В.П., Носенко Н.Д., Ткачук С.С., Мыслицкий В.Ф. Пренатальный стресс и нейроэндокринная патология. – Черновцы: Мед-академия, 2004. – 351 с.
6. Ткачук С.С., Пішак В.П., Мислицький В.Ф. Структурно-функціональна дезінтеграція стресорезисуючої та стреслімітуючої систем мозку як прояв модифікації гормон-медіаторного імпринтингу у самців щурів із синдромом пренатального стресу // Журн. АМН України. – 2003. – **9**, № 1. – С. 130-140.
7. Graf W.D., Oleinik O.E., Pippenger C.E. et al. Comparison of erythrocyte antioxidant enzyme-activities and embryologic level of neural-tube defects // Eur. J. Ped. Surg. – 1995. – **5**, № 1. – P. 8-11.
8. Ratan R.R., Lee P.J., Baraban J.M. Serum deprivation inhibits glutathione depletion-induced death in embryonic cortical-neurons – evidence against oxidative stress as a final common mediator of neuronal apoptosis // Neurochem. Int. – 1996. – **29**, № 2. – P. 153-157.
9. Winn L.M., Wells P.G. Evidence for embryonic prostaglandin H-synthase-catalyzed bioactivation and reactive oxygen species-mediated oxidation of cellular macromolecules in phenytoin and benzo[a]pyrene teratogenesis // Free Radic. Biol. Med. – 1997. – **22**, № 4. – P. 607-621.

## РОЛЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В МЕХАНИЗМАХ ПЛАСТИЧНОСТИ МОЗГА, ОБУСЛОВЛЕННОЙ ПРЕНАТАЛЬНЫМ СТРЕССОМ

**А.В. Ткачук, В.Ф. Мыслицкий, С.С. Ткачук, И.Р. Тимофийчук, Л.О. Филиппова**  
БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

### Резюме

*Исследовано роль процессов липопероксидации и антиоксидантной защиты в механизмах пластичности мозга. Установлено, что пренатальный стресс программирует сниженную реакцию глутатионпероксидазы лимбико-гипоталамических структур мозга на острый иммобилизационный стресс.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** липопероксидация, антиоксидантная защита, пластичность мозга, пренатальный стресс.

## ROLE OF FREE RADICAL PROCESSES IN BRAIN PLASTICITY MECHANISMS CAUSED BY PRENATAL STRESS

**O.V. Tkachuk, V.F. Myslytsky, S.S. Tkachuk, I.R. Tymofiychuk, L.O. Filipova**  
BUCOVYNIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

### Summary

*The role of lipoperoxidation and antioxidant protection processes in brain plasticity mechanisms been studied. It has been established that prenatal stress has programs low reaction of glutathionperoxidase of the limbico-hypothalamic brain structures on acute immobilization stress.*

**KEY WORDS:** Lipid peroxidation, antioxidant protection, brain plasticity, prenatal stress.

**Адреса для листування:** О.В. Ткачук, Буковинський державний медичний університет, Чернівці, Україна.

## КОМПОНЕНТИ ГЛІКОКАЛІКСУ ТА ЩІЛЬНІСТЬ АДРЕНОРЕЦЕПТОРІВ ПЛАЗМАТИЧНИХ МЕМБРАН КАРДІОМІОЦИТІВ ПРИ ПОЄДНАНОМУ ВПЛИВІ ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЇ І БОЛЬОВОГО СТРЕСУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ; ЕФЕКТИ ДИЛТІАЗЕМУ

Н.М. Василичук, Л.С. Мхітарян  
ІНСТИТУТ КАРДІОЛОГІЇ ІМ. М.Д. СТРАЖЕСКА АМН УКРАЇНИ, КИЇВ

*Експериментальна гіперхолестеролемія (ГХЕ) та стрес призводять до стереотипних змін вмісту структурних компонентів глікокаліксу – зменшення рівня гексоз і сіалових кислот, яке було найбільш суттєво виражене при одночасній дії вказаних пошкоджувальних факторів. Зміни кількості місць зв'язування радіолігандного агоніста, що характеризує процес специфічного зв'язування його з мембраною (тобто щільність β-адренорецепторів), навпаки, були різнонаправленими при ГХЕ і больовому стресі. Показано нормалізуючу дію на ці порушення дилтіазему.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіперхолестеролемія, стрес, кардіоміоцити, дилтіазем.

ВСТУП. Найважливішими патогенетичними факторами атеросклерозу є атерогенна гіперліпідемія та дія стресорних факторів [5, 10]. Разом із тим вкрай недостатньо вивчено молекулярні механізми уражень міокарда за умов гіперліпідемії та стресу. Особливо мало уваги приділяли дослідженню стану поверхневого (зовнішнього) шару плазматичної мембрани клітин міокарда, що складається в основному з гліколіпідів, глікопротеїдів та сіалових кислот [1, 4]. Відомо, що в глікокалікс вбудований рецепторний апарат клітин. Природно допустити, що ймовірні порушення структури глікокаліксу та ліпідного матриксу плазматичних мембран клітин у процесі атерогенезу можуть стати важливим біохімічним механізмом розвитку порушень скоротливої функції та ритмічної діяльності серця.

Вищезазначене зумовило вибір мети даної роботи – вивчення впливу гіперхолестеролемії (ГХЕ), стрес-реакції та їх поєднаного впливу на стан плазматичних мембран кардіоміоцитів, а також ефекти антагоніста кальцію дилтіазему в даних умовах.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Гіперхолестеролемію моделювали на безпородних кролях масою 2,8-3,0 кг шляхом додавання в раціон тварин холестеролу в дозі 0,5 г/кг щоденно протягом двох місяців. У роботі також використано

© Н.М. Василичук, Л.С. Мхітарян, 2006.

станом експериментальну модель емоційно-больового стресу, описану в літературі [6]. Експерименти було проведено із врахуванням вимог гуманного ставлення до тварин під етаміналовим наркозом у дозі 30 мг/кг маси тіла внутрішньовенно. З міокарда піддослідних кролів було отримано та очищено везикульовані фрагменти сарколеми кардіоміоцитів із застосуванням диференційного ультрацентрифугування за методом Р.Ж. Луїса [7]. Про чистоту одержаного препарату мембран висновки робили на основі визначення активності маркерних ферментів – 5'-нуклеотидази і Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФази [2]. Для оцінки стану глікокаліксу визначали вміст у ньому структурних компонентів – сіалових кислот та гексозамінів за описаними у літературі спектрофотометричними методами [3]. Щільність β-адренорецепторів сарколеми вивчали за допомогою методу радіолігандного зв'язування з використанням (<sup>3</sup>H)-дигідроалпренололу [9]. Вміст білка у мембранних препаратах визначали за Лоурі [8].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Проведені дослідження показали, що при експериментальній ГХЕ спостерігається достовірне зменшення вмісту структурних компонентів поверхневого шару сарколеми глікокаліксу (гексоз і сіалових кислот) на 34 і 44 % відповідно порівняно з контролем (табл. 1). Однонаправлені зміни цих компонентів встановлені на-

Таблиця 1 – Компоненти глікокаліксу плазматичних мембран кардіоміоцитів та щільність  $\beta$ -адренорецепторів сарколеми міокарда за умов ГХЕ і стресорного впливу ( $M \pm m$ ),  $n=8$

| Умови експерименту         | Структурні компоненти глікокаліксу |                                  | Щільність $\beta$ -адренорецепторів сарколеми кардіоміоцитів ( $B_{max}$ ) фмоль/мг білка |
|----------------------------|------------------------------------|----------------------------------|---|
|                            | Гексози, мкг/мг білка              | Сіалові кислоти, мкмоль/мг білка |   |
| Контроль                   | 3,35 $\pm$ 0,14                    | 0,34 $\pm$ 0,03                  | 380,0 $\pm$ 25,6  |
| Експериментальна ГХЕ       | 2,21 $\pm$ 0,11*                   | 0,19 $\pm$ 0,02*                 | 740,0 $\pm$ 32,0 *  |
| Тривалий стресорний вплив  | 2,34 $\pm$ 0,21*                   | 0,27 $\pm$ 0,03                  | 152,0 $\pm$ 17,0 *  |
| Експериментальна ГХЕ+стрес | 0,95 $\pm$ 0,07*                   | 0,15 $\pm$ 0,02*                 | 530,0 $\pm$ 68,0 *  |
| ГХЕ+дилтіазем              | 4,08 $\pm$ 0,50                    | 0,40 $\pm$ 0,03                  | 310,0 $\pm$ 43,0 **   |

Примітки: 1.  $B_{max}$  – щільність адренорецепторів; 2. \* – різниця достовірна порівняно з контролем ( $p < 0,05$ ); 3. \*\* – різниця достовірна порівняно з ГХЕ.

ми також за умов експериментального стресу. Тривалий стресорний вплив викликав менш виражену зміну стану глікокаліксу – вміст гексоз та сіалових кислот знизився на 30 і 21 % відповідно. Найбільш суттєві зміни вмісту структурних компонентів глікокаліксу (див. табл. 1) виявлені нами при поєднаній дії ГХЕ та емоційно-больового стресу. Так, вміст гексоз і сіалових кислот за цих умов достовірно зменшився, порівняно з контролем, на 73 і 55 % відповідно.

Вивчення щільності  $\beta$ -адренорецепторів сарколеми міокарда показало, що за умов ГХЕ в мембранах кардіоміоцитів міститься значно більше (на 95 % порівняно з контролем) місць зв'язування ( $^3H$ )-дигідроалпренололу. Тривала стресорна дія, навпаки, призводила до зменшення кількості місць зв'язування ( $^3H$ )-дигідроалпренололу (на 60 %) порівняно з контролем. Щільність  $\beta$ -адренорецепторів у мембранах при поєднаному впливі ГХЕ і стресу була менша (на 56 %), ніж у тварин з ізольованою ГХЕ. Одночасна дія двох найважливіших патогенетичних факторів атерогенезу – ГХЕ і стресу – супроводжувалась значним збільшенням (на 39 %) щільності  $\beta$ -адренорецепторів порівняно з контролем.

Курсове застосування антагоніста кальцію дилтіазему в дозі 5 мг/кг протягом двох тижнів призводило до нормалізації вмісту структурних компонентів глікокаліксу. Спостерігалось навіть деяке збільшення вмісту гексоз і сіалових кис-

лот у поверхневому шарі сарколеми кардіоміоцитів порівняно з контрольними показниками (відповідно, на 21 і 17 %). Щільність  $\beta$ -адренорецепторів за умов ГХЕ під впливом курсового застосування дилтіазему нормалізувалась, зменшившись при цьому на 58 % порівняно з показниками у тварин з ГХЕ, які не приймали препарат, і достовірно не відрізняючись від контролю.

**ВИСНОВКИ.** Аналіз отриманих результатів дає можливість стверджувати, що як експериментальна ГХЕ, так і експериментальний больовий стрес призводять до стереотипних змін вмісту структурних компонентів поверхневого шару сарколеми. При поєднанні вказаних пошкоджувальних факторів відбувається зменшення вмісту гексоз і сіалових кислот з "оголенням" поверхні плазматичних мембран кардіоміоцитів. Зміни кількості місць зв'язування радіолігандного агоніста, що характеризує процес специфічного зв'язування його з мембраною (тобто щільність  $\beta$ -адренорецепторів), навпаки, були різнонаправленими при ГХЕ і больовому стресі. Антагоніст кальцію дилтіазем при курсовому застосуванні, окрім свого специфічного впливу, здійснює фармакодинамічні ефекти на структурні компоненти та рецепторний апарат плазматичних мембран кардіоміоцитів, нормалізуючи зміни, характерні для ГХЕ і стрес-реакції, що може бути враховано в клінічній практиці.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Артюхов В.Г., Наквасина М.А. Биологические мембраны: структурная организация, функции, модификация физико-химическими агентами. – Воронеж: Изд-во Воронежского государственного университета, 2000. – 295 с.

2. Даниленко М.П., Ким Э.А., Омарова Р.Д., Есырев О.В. Действие ацетилхолина на  $Na^+, K^+$ -АТФазную активность разных препаратов сарколеммы миокарда // Вопр. мед. химии. – 1983. – 29, № 1. – С. 29-33.

3. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск, 1982. – С. 169-171.  
 4. Кучменко О.Б. Зміни ліпідної структури та іон-транспортних систем сарколеми кардіоцитів за умов експериментальної патології // Наукові записки НАУКМА. – 2001. – 19, частина II. – С. 393-398.  
 5. Лутай М.И. Атеросклероз: современный взгляд на патогенез // Укр. кардиол. журн. – 2004. – № 1. – С.22-35.  
 6. Desiderato O., MacKinnon J., Hissom H. Development of gastric ulcers in rats following stress termination // J. Comp. Physiol. Psychol. – 1974. – **87**. – P. 208-214.

7. Louis P.J., Sulakhe P.V. Isolation of sarcolemma membranes from cardiac muscle // Int. J. Biochem. – 1976. – **77**. – P. 547-558.  
 8. Lowry O.H., Rosenbrough N.H., Farr A.L., Randall J.R. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – **193**. – P. 265-276.  
 9. Lifrowitz R.J., Millikin D., Caron M. Regulation of beta-adrenergic receptors by guanyl-5'-imidodiphosphate and other purine nucleotides // J. Biol. Chem. – 1976. – **251**, № 15. – P. 4686-4692.  
 10. Meerson F.Z. Stress-induced arrhythmic disease of the heart // Clin.Cardiology. – 1994. – **17**, № 8. – P. 422-426.

## КОМПОНЕНТЫ ГЛИКОКАЛИКСА И ПЛОТНОСТЬ АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ СОЧЕТАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ И БОЛЕВОГО СТРЕССА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ; ЭФФЕКТЫ ДИЛТИАЗЕМА

**Н.Н. Василичук, Л.С. Мхитарян**  
 ИНСТИТУТ КАРДИОЛОГИИ ИМ. Н.Д. СТРАЖЕСКО АМН УКРАИНЫ, КИЕВ

### Резюме

*Экспериментальная гиперхолестеролемиа (ГХЕ) и стресс приводят к стереотипным изменениям содержания структурных компонентов гликокаликса – уменьшению уровня гексоз и сиаловых кислот, что было наиболее существенно выражено при сочетании указанных повреждающих факторов. Изменения количества мест связывания радиолигандного агониста, что характеризует процесс специфического связывания его с мембраной (т.е. плотность  $\beta$ -адренорецепторов), наоборот, были разнонаправленными при ГХЕ и болевом стрессе. Показано нормализующее влияние на эти нарушения дилтиазема.*

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гиперхолестеролемиа, стресс, кардиомиоциты, дилтиазем.

## STRUCTURE OF GLCOCALYX AND DENSITY OF ADRENORECEPTORS OF CARDIOMYOCYTE PLASMA MEMBRANES UNDER INFLUENCE OF EXPERIMENTAL COMBINED HYPERCHOLESTEROLEMIA AND PAIN STRESS; DILTIAZEM EFFECTS

**N.M. Vasylynychuk, L.S. Mkhitaryan**  
 INSTITUTE OF CARDIOLOGY, BY M.D. STRAZHESKO OF AMS OF UKRAINE, KYIV

### Summary

*Experimental pathology (hypercholesterolemia and stress) is determined to be accompanied by some stereotypic modifications occurred in the surface of the cardiomyocytes plasma membranes – decrease of level of gexoses and sial acids. These modifications are also accompanied by the infringement of density of  $\beta$ -adrenoreceptors. The research marks that diltiazem was manifested by normalization this changes.*

KEY WORDS: hypercholesterolemia, stress, cardiomyocytes, diltiasem.

Адреса для листування: Н.М. Василичук, Інститут кардіології ім.акад. М.Д. Стражеска АМН України, вул. Народного ополчення, 5, Київ, 03151, Україна.

## ВПЛИВ АТОРВАСТАТИНУ НА ПРОЦЕСИ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ БІЛКІВ ТА ЛІПІДІВ КРОВІ ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ

**І.Н. Євстратова, Л.С. Мхітарян, Н.М. Орлова, Н.М. Василичук, Т.Ф. Дроботько**  
ІНСТИТУТ КАРДІОЛОГІЇ ІМ. АКАД. М.Д. СТРАЖЕСКА АМН УКРАЇНИ, КИЇВ

*У біохімічних дослідженнях процесів вільнорадикального окиснення білків та ліпідів у хворих на ішемічну хворобу серця з проявами оксидативного стресу доведено, що представник класу статинів – аторвастатин – поряд з антигіперліпідемічним ефектом проявляє певну антиоксидантну дію, спрямовану проти активації реакцій вільнорадикального окиснення.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** вільнорадикальне окиснення білків, перекисне окиснення ліпідів, ішемічна хвороба серця, аторвастатин.

**ВСТУП.** Інтенсифікація перекисного окиснення ліпідів вважається важливою складовою частиною оксидативного стресу, що відіграє значну роль у патогенезі та прогресуванні різних захворювань, насамперед атеросклерозу та ішемічної хвороби серця. Поряд з цим в останній час з'явилися дані, які свідчать про те, що активні форми кисню можуть викликати окиснювальну модифікацію не тільки ліпідів, а й білків [2, 4-6], перш за все білків плазматичних мембран клітин, що може суттєво змінювати та порушувати їх функціональний стан [7]. Метою наших досліджень було встановлення характеру змін вільнорадикальних реакцій у хворих на ішемічну хворобу серця (ІХС) за умов курсового лікування антигіперліпідемічним засобом аторвастатином (Ліпрімар, США), який широко використовують у клініці для лікування атеросклерозу.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Об'єктом дослідження була сироватка крові хворих на ІХС із коронарографічно верифікованим атеросклерозом серцевих судин. У сироватці крові пацієнтів за допомогою біохімічних методів визначали показники інтенсифікації процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) за вмістом дієнових кон'югатів (ДК) та малонового діальдегіду (МДА), оцінювали активність антиперекисних ферментів каталази та супероксиддисмутази (СОД), визначали показники акти-

вації вільнорадикального окиснення білків за вмістом кінцевих продуктів цієї реакції 1,4-динітрофенілгідрозонів у сироватці крові та ліпопротеїдах низької та дуже низької густини (ЛПНГ та ЛПДНГ) [1]. У всіх хворих одночасно досліджували особливості ліпідного обміну: вміст холестерину (ХС), триацилгліцеридів (ТГ), холестерину ліпопротеїдів високої густини (ЛПВГ) на біохімічному аналізаторі Експрес-550 Ciba – Corning (Велика Британія) з використанням відповідних тест-наборів. Ліпопротеїдний склад сироватки крові хворих оцінювали за допомогою методу електрофорезу в поліакриламідному гелі на апараті для електрофорезу з аналізатором фореграм Cormay (Польща). Прямим шляхом досліджували індекс перекисної модифікації атерогенних ліпопротеїдів – низької та дуже низької густини (ЛПНГ, ЛПДНГ, патент № 30972 України, 2000 р.) [3].

Дослідження дії фармакологічних впливів було проведено в динаміці на двох групах хворих. Пацієнтами 1-ї групи були хворі на ІХС, які не отримували антигіперліпідемічних препаратів, пацієнти 2-ї групи одержували курсове (2 місяці) лікування аторвастатином (Ліпрімар, США) в дозі 20 мг на добу. При формуванні контрольної групи досліджували здорових донорів.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Виконані дослідження підтвердили, що аторвастатин дійсно має виражену антигіперліпідемічну дію. Він сприяв практично повній нормалізації вмісту

загального ХС в сироватці крові при менш значному впливі на підвищений рівень тригліцеридів крові. Антиатерогенний ефект препарату, ймовірно, був пов'язаний перш за все зі значним (майже у 2 рази) зниженням збільшеного вмісту ХС ліпопротеїдів низької густини та дуже низької густини, що супроводжувалось нормалізацією коефіцієнта атерогенності сироватки крові.

Поряд з антигіперліпідемічною дією лікування аторвастатином супроводжувалося зниженням показників оксидативного стресу та активності антиоксидантних ферментів (табл. 1) [2]. Так, вміст продуктів ПОЛ – ДК та МДА в крові хворих після лікування аторвастатином проявляв тенденцію до зменшення (на 23,8 та 12,6 % відповідно). Такий же напрямок мали зміни індексу перекисної модифікації атерогенних ліпопротеїдів (ІПМАЛП). Поряд із цим у наших дослідженнях було відмічено значне (практично у 2 рази) підвищення зменшеної

активності СОД, яка після лікування аторвастатином наближалась до контрольного рівня.

Водночас аторвастатин проявив більш значний вплив на процеси вільнорадикального окиснення білків у сироватці крові. Це супроводжувалося суттєвим (майже у 2 рази) зниженням підвищеного показника вмісту продуктів вільнорадикального окиснення білків (ВРОБ) 1,4-динітрофенілгідразонів у сироватці крові після лікування. Значно менший ефект аторвастатину було виявлено при дослідженні інтенсивності ВРОБ в атерогенних ліпопротеїдах (див. табл. 1).

**ВИСНОВОК.** Таким чином, у цілому при дослідженні ефектів аторвастатину у хворих на ІХС, окрім його основних антигіперліпідемічних властивостей, спостерігалася антиоксидантна дія, яка була найбільш вираженою відносно компонента оксидативного стресу, пов'язаного з інтенсифікацією процесів ВРОБ.

Таблиця 1 – Показники інтенсивності вільнорадикального окиснення білків і ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у хворих на ІХС при курсовому лікуванні аторвастатином (Ліпрімар, США)

| Досліджувані показники                           | Статистичні показники      | Донори    | Хворі на ІХС       |                             |
|--|----------------------------|-----------|--------------------|-----------------------------|
|  |                            |           | до лікування       | після лікування             |
| 1,4-динітрофеніл-гідразони сироватки, ум. од./мл | M±m<br>P<br>P <sub>1</sub> | 4,6±0,5   | 10,4±2,4<br><0,05  | 5,5±1,1<br>>0,05<br><0,05   |
| Фенілгідразони ЛПДНГ+ЛПНГ, ум.од.                | M±m<br>P<br>P <sub>1</sub> | 0,88±0,11 | 0,93±0,1<br>>0,05  | 0,84±0,10<br>>0,05<br>>0,05 |
| ІПМАЛП, ум.од.                                   | M±m<br>P<br>P <sub>1</sub> | 2,50±0,36 | 8,40±0,85<br><0,05 | 7,70±0,71<br><0,05<br>>0,05 |
| ДК, ум.од./мл                                    | M±m<br>P<br>P <sub>1</sub> | 1,59±0,50 | 4,20±0,65<br><0,05 | 3,20±0,30<br><0,05<br>>0,05 |
| МДА, мкмоль/мл                                   | M±m<br>P<br>P <sub>1</sub> | 8,5±0,7   | 10,3±1,0<br><0,05  | 9,00±0,85<br>>0,05<br>>0,05 |
| Каталаза, Од./л                                  | M±m<br>P<br>P <sub>1</sub> | 12,5±2,5  | 9,0±1,8<br>>0,05   | 8,10±0,91<br><0,05<br>>0,05 |
| СОД, Од./мл                                      | M±m<br>P<br>P <sub>1</sub> | 1906±300  | 952±150<br><0,05   | 1853±455<br>>0,05<br><0,05  |

Примітки. P – вірогідність різниці на порівняння зі здоровими донорами;

P<sub>1</sub> – вірогідність різниці на порівняння з хворими на ІХС до лікування.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов І.Г. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения // Вопр. мед. химии. – 1995. – 41. – С. 24-26.

2. Орлова Н.Н., Мхитарян Л.С., Евстратова И.Н. и др. Особенности свободнорадикальной модификации белков крови и апопротеинов атерогенных липопротеидов в условиях коронарного атеросклероза.



роза // Укр. кардіол. журн. – 2005. – № 6. – С. 122-126.

3. Пат. № 30972 А, Бюл. 2000, № 2. Спосіб діагностики прогресуючого атеросклерозу / Євстратова І.Н., Мхитарян Л.С., Орлова Н.М. та ін.

4. Blakeman D.R., Ryan T.P., Jolly R.A., Petry T.W. Protein oxidation: examination of potential lipid-independent mechanisms for protein carbonyl formation // J. Biochem. Mol. Toxicol. – 1998. – **12**, № 3. – P. 185-190.

5. Dean R.T., Fu S., Stocker R., Davies M.J.

Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation // Biochem. J. – 1997. – **324**. – P. 1-18.

6. Dubey A., Forster M.J., Sohal R.S. Effect of age and caloric intake on protein oxidation in different brain regions and on behavioral functions of the mouse // Arch. Biochem. Biophys. – 1996. – **333**, № 1. – P. 189-197.

7. Fu S., Davies M.J., Stocker R., Dean R.T. Evidence for roles of radicals in protein oxidation in advanced human atherosclerotic plaque // Biochem. J. – 1998. – **333**. – P. 519-520.

## ВЛИЯНИЕ АТОРВАСТАТИНА НА ПРОЦЕССЫ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ БЕЛКОВ И ЛИПИДОВ КРОВИ БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

**И.Н. Евстратова, Л.С. Мхитарян, Н.Н. Орлова, Н.Н. Василичук, Т.Ф. Дроботько**  
ИНСТИТУТ КАРДИОЛОГИИ ИМ. АКАД. Н.Д. СТРАЖЕСКО АМН УКРАИНЫ, КИЕВ

### Резюме

*В биохимических исследованиях процессов свободнорадикального окисления белков и липидов у больных ишемической болезнью сердца с проявлениями оксидативного стресса доказано, что представитель класса статинов – аторвастатин – наряду с его антигиперлипидемическим эффектом проявляет определенное антиоксидантное действие, направленное против активации реакций свободнорадикального окисления.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** свободнорадикальное окисление белков, перекисное окисление липидов, хроническая ишемическая болезнь сердца, аторвастатин.

## INFLUENCE OF ATORVASTATIN ON FREE RADICAL PROTEIN AND LIPID OXIDATION IN BLOOD WITH PATIENTS OF ISCHAEMIC HEART DISEASE

**I.N. Yevstratova, L.S. Mkhitarian, N.M. Orlova, N.M. Vasylynchuk, T.F. Drobotko**  
INSTITUTE OF CARDIOLOGY BY M.D. STRAZHESKO OF ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES OF UKRAINE

### Summary

*In biochemical investigations of free radical oxidation of proteins and lipids in blood of patients with ischaemic heart disease with signs of oxidative stress was shown that representative of statins – atorvastatin – parallel with antihyperlipidemic effect manifests certain antioxidant effect, directed against activation of reactions of free radical oxidation.*

**KEY WORDS:** free radical oxidation of proteins, lipid peroxidation, ischaemic heart disease, atorvastatin.

**Адреса для листування:** І.Н. Євстратова, Інститут кардіології ім.акад. М.Д. Стражеска АМН України, вул. Народного ополчення, 5, Київ, 03151, Україна.

## ДОСЛІДЖЕННЯ ФРАГМЕНТОВАНОСТІ ФІБРОНЕКТИНУ ЛЮДИНИ ЗА УМОВ ЗАПАЛЬНОГО ПРОЦЕСУ

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

*Досліджено ступінь фрагментованості вільного фібронектину (ФН) плазми крові за умов норми та гострого запального процесу (ГЗП). Мали місце зміни спектра та частоти виявлення фрагментів ФН на різних стадіях ГЗП порівняно з нормою. Зміна ступеня фрагментованості ФН може свідчити про участь його фрагментів у механізмах розвитку запальних реакцій.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **фібронектин, фрагменти фібронектину, запальний процес.**

**ВСТУП.** Розвиток запального процесу пов'язаний з реакціями біологічного окиснення. Оскільки багато захворювань супроводжуються запальними реакціями, дуже важливим є вивчення молекулярних механізмів запалення. У літературі існують дані, що свідчать про значну роль фібронектину (ФН) у розвитку запального процесу [2, 3]. Відомо, що при запальному процесі підвищується активність протеолітичних ферментів [4], що може призводити до деградації компонентів екстраклітинного матриксу, в тому числі й ФН. Біологічна активність утворених фрагментів ФН може відрізнитися від такої для нативного ФН та впливати на розвиток запального процесу. Тому метою дослідження було вивчення фрагментованості ФН плазми крові людини при гострому запальному процесі (ГЗП) у сполучній тканині.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Матеріалом дослідження була плазма крові здорових донорів (1-ша група, n=14) та хворих на гострий Q-інфаркт міокарда (2-га група, n=64). До 2-ї групи ввійшли 79,7 % чоловіків (середній вік –  $(57,5 \pm 1,4)$  року), до 1-ї – здорові донори порівняльного віку та статі. Гострий Q-інфаркт міокарда (QIM) розглядали як модель для вивчення стану та біологічної активності ФН за умов ГЗП у сполучній тканині людини. Дослідження у 2-й групі проводили на 4 етапах: через 6 год після початку захворювання, що відповідає стадії альтерації ГЗП, на 8 добу після

© Г.Б. Пелешенко, А.П. Іванов, О.А. Коваль, А.І. Шевцова, 2006.

закінчення антитромбінової терапії низькомолекулярним та нефракціонованим гепарином (стадія ексудації), наприкінці госпітального періоду (стадія репарації) та через 1 рік обстеження.

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

Статистичну обробку результатів виконано за допомогою пакета програм "Статистика 6.0" – непараметрична статистика з використанням статистики  $\chi^2$ .

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У таблиці 1 представлено результати дослідження вільного ФН у 1-й та 2-й групах.

Як видно з таблиці 1, спектр фрагментів вільного ФН у плазмі крові на стадіях альтерації, ексудації та репарації ГЗП та через 1 рік обстеження був ширшим, особливо за рахунок збільшення кількості фрагментів з М.м. 140-130 кДа, ніж у нормі.

Частота виявлення нативної субодиниці ФН 220 кДа у 2-й групі на стадії альтерації складала тільки 38 %, що є достовірно нижчим ( $p=0,0058$ ), ніж такий показник у 1-й групі, який становив 100 %. Слід відмітити достовірне підвищення на стадії альтерації частоти

Таблиця 1 – Частота виявлення (у %) фрагментів вільного ФН у плазмі крові здорових донорів (1-ша група) та хворих з ГЗП (2-га група)

| М.м.,<br>кДа | 1-ша<br>група<br>(n=14) | 2-га група (n=64) |          |          |        |          |          |         |          |          |       |          |          |
|--------------|-------------------------|-------------------|----------|----------|--------|----------|----------|---------|----------|----------|-------|----------|----------|
|              |                         | 1 доба            |          |          | 8 доба |          |          | 21 доба |          |          | 1 рік |          |          |
|              |                         | %                 | р        | $\chi^2$ | %      | р        | $\chi^2$ | %       | р        | $\chi^2$ | %     | р        | $\chi^2$ |
| 1-15         | 0                       | 14                | 0,12     | 2,35     | 15     | 0,12     | 2,41     | 19      | 0,07     | 3,07     | 33    | 0,01     | 6,14     |
| 15-19        | 0                       | 8                 | 0,26     | 1,23     | 17     | 0,09     | 2,81     | 5,4     | 0,37     | 0,79     | 25    | 0,04     | 4,27     |
| 20-35        | 21                      | 62                | 0,006    | 7,67     | 67     | 0,002    | 9,23     | 78      | 0,0002   | 14,09    | 97    | <0,00001 | 31,75    |
| 100-110      | 7                       | 57                | 0,0007   | 11,51    | 52     | 0,0028   | 8,95     | 46      | 0,01     | 6,7      | 58,3  | 0,001    | 10,72    |
| 120          | 14                      | 42                | 0,0025   | 9,13     | 41     | 0,0036   | 8,46     | 32      | 0,01     | 5,82     | 55    | 0,0003   | 12,96    |
| 130-140      | 0                       | 41                | <0,00001 | 20,76    | 59     | 0,0001   | 14,94    | 67      | <0,00001 | 18,56    | 55    | 0,0003   | 12,96    |
| 180-190      | 14                      | 65                | 0,0005   | 12,16    | 74     | <0,00001 | 16,85    | 75      | 0,0001   | 15,8     | 89    | <0,00001 | 25,78    |
| 220          | 100                     | 38                | 0,0058   | 7,61     | 59     | 0,0036   | 8,46     | 70      | 0,02     | 5,31     | 64    | 0,009    | 6,83     |

Примітки: 1. Значення р дано відносно 1-ї групи; 2.  $\chi^2$  – критерій однорідності; 3. М.м. – молекулярна маса.

виявлення фрагментів: 180-190 кДа – на 51 % порівняно з нормою (р=0,0005, 14 %), 100-110 кДа – на 50 % порівняно з нормою (р=0,0007, 7 %), 20-35 кДа – на 41 % порівняно з нормою (р=0,006, 21 %).

На стадії репарації у 2-й групі фрагменти з М.м. 130-140 кДа виявили у 67 % хворих. Частота виявлення фрагментів ФН з М.м. 20-35 кДа складала 78 %, що було достовірно вищим (р=0,0002) порівняно з нормою (21 %). У свою чергу, фрагменти з М.м. 180-190 кДа виявили у 75 % хворих, що було достовірно вищим у 2-й групі (р=0,0001), ніж такий показник у 1-й групі, який становив 14 %. Слід відмітити, що на стадії репарації ГЗП спостерігалася тенденція до збільшення частоти виявлення нативної субодиниці 220 кДа до 70 %, однак цей показник був достовірно нижчим (р=0,02), ніж такий показник у нормі, що становив 100 %.

Через 1 рік після початку обстеження спостерігалася збільшення частоти фрагментів з М.м. в межах 1-19 кДа. Слід відмітити, що на цьому етапі частота виявлення фрагментів з М.м. 20-35 та 180-190 кДа складала, відповідно, 97 та 89 % і була достовірно вищою (р<0,00001), ніж у нормі – 14 і 21 %.

Збільшення частоти виявлення фрагментів ФН на стадії альтерації ГЗП може бути наслідком активації протеолітичних ферментів коагуляції, системи фібринолізу та матриксних металопроотеїназ. Виявлені фрагменти ФН можуть мати біологічну активність. Так, відомо, що фрагмент з М.м. 140 кДа бере участь у регуляції звільнення еластази моноцитів [6]. Крім

того, цей фрагмент може впливати на експресію матриксних протеїназ-1, -13 та стромелізіну і через те індукує катаболізм компонентів сполучної тканини при артритах [2]. Фрагменти з М.м. 110-120 кДа стимулюють здатність моноцитів до індукції факторів, що підвищують виживання кардіоміоцитів за умов гострої ішемії міокарда [5]. Згідно з даними J.L. Czor et al., фрагменти з М.м. 180-190 кДа володіють опсонічною активністю [1]. Підвищення кількості фрагментів з М.м. 180-190 кДа може вказувати на їх участь у елімінації складових тромбу.

Таким чином, збільшення частоти виявлення окремих фрагментів ФН при ГЗП може свідчити про те, що вони беруть участь у розвитку та регуляції запальних реакцій. Подальше зростання частоти виявлення окремих фрагментів ФН через 1 рік обстеження (див. табл. 1) вказує на продовження активації протеолізу в сполучній тканині, що може впливати на атеросклеротичні процеси.

**ВИСНОВКИ.** 1. Встановлено, що при ГЗП підвищується ступінь фрагментованості вільного ФН.

2. На стадії альтерації ГЗП спостерігається збільшення частоти виявлення фрагментів ФН з М.м. від 20 до 190 кДа порівняно з нормою.

3. Для стадії репарації ГЗП характерним є збільшення частоти виявлення фрагментів з М.м. 20-35 і 130-190 кДа.

4. У плазмі крові пацієнтів 2-ї групи через 1 рік обстеження частота виявлення фрагментів ФН з М.м. 20-35 і 180-190 кДа є значно більшою, ніж у 1-й групі.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Czor J.L., Kadish D.M., Zepf D.M., Austen K.F. Characterization of the opsonic and monocyte adherence functions of the specific fibronectin frag-

ment that enhances phagocytosis of particulate activators // The Journal of Immunology. – 1985. – 134. – P. 1844-1850.

2. Homandberg G.A. Potential regulation of cartilage metabolism in osteoarthritis by fibronectin fragments // *Frontiers in Bioscience*. – 1999. – № 4. – P. 713-730.

3. Magnusson M., Mosher D.F. Fibronectin: structure, assembly and cardiovascular implications // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 1998. – **18**. – P. 1363-1370.

4. Smutzer G. Profile. Molecular demolition. Matrix metalloproteinases and their inhibitors play key roles in tissue remodeling and pathogenesis of metastatic

and inflammatory diseases // *The Scientist*. – 2002. – **16**, № 4. – P. 34.

5. Trial J., Rossen R.D., Rubio J., Knowlton A.A. Inflammation and ischemia: macrophages activated by fibronectin fragments enhance the survival of injured cardiac myocytes // *Exp. Biol. Med.* – 2004. – **22**. – P. 538-545.

6. Xie D.L., Meyers R., Homandberg G.A. Release of elastase from monocytes adherent to a fibronectin-gelatin surface // *Blood*. – 1993. – **81**. – P. 186-192.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ФРАГМЕНТИРОВАННОСТИ ФИБРОНЕКТИНА ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА

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

### Резюме

*Исследована степень фрагментированности свободного фибронектина (ФН) плазмы крови в условиях нормы и острого воспалительного процесса (ОВП). Имели место изменения спектра и частоты выявления фрагментов ФН на разных стадиях ОВП по сравнению с нормой. Изменение степени фрагментированности ФН может свидетельствовать об участии его фрагментов в механизмах развития воспалительных реакций.*

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **фибронектин, фрагменты фибронектина, воспалительный процесс.**

## INVESTIGATION OF FRAGMENTATION OF HUMAN FIBRONECTIN UNDER THE INFLAMMATORY PROCESS

**G.B. Peleshenko<sup>1</sup>, A.P. Ivanov<sup>2</sup>, O.A. Koval<sup>1</sup>, A.I. Shevtsova<sup>1</sup>**  
DNIEROPETROVSK STATE MEDICAL ACADEMY<sup>1</sup>  
CITY JOINT EMERGENCY HOSPITAL<sup>2</sup>

### Summary

*The degree of fragmentation of free blood plasma fibronectin (FN) under norm and under acute inflammatory process (AIP) have been investigated. The alterations of spectrum and frequency of detection of FN fragments at different stages of AIP were found comparing with norm. The alteration of a degree of FN fragmentation of can testify to the participation of its fragments in mechanisms of development of inflammatory reactions.*

KEY WORDS: **fibronectin, fibronectin fragments, inflammatory process.**

Адреса для листування: Г.Б. Пелешенко, Дніпропетровська державна медична академія, Дніпропетровськ, Україна.

## СТАН СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ТКАНИНАХ МОЛЮСКІВ З МАЛОЇ РІЧКИ ГНІЗНА

О.В. Міщук, О.Б. Столяр

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В. ГНАТЮКА

*Дослідження молюсків, які мешкають у різних зонах річки Гнізна, після переселення на 14 діб у лабораторію або в дельту річки показало, що кількість і ступінь окиснення глутатіону є чутливими показниками якості води.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** молюски, комбіноване забруднення, глутатіон, окисна деструкція білків, залізо.

**ВСТУП.** Якість води у водоймах України контролюють здебільшого за допомогою хімічного аналізу, що не дає можливості охопити всі потенційно небезпечні компоненти природних вод, продукти їх трансформації та врахувати їх інтегральну токсичність. Тому ми використали поширений у системі європейського моніторингу підхід біотестування якості води шляхом визначення стану біомаркерів [1]. Тест-об'єктом були двостулкові молюски, які є поширеними представниками прісних водойм, що ведуть осілий спосіб існування і накопичують можливі токсиканти, а потенційними біомаркерами – показники системи антиоксидантного захисту [6].

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження проводили на особинах прісноводного двостулкового молюска беззубки лебединої *Anodonta cygnea* L. з діаметром черепашки приблизно 10 см і масою 8-12 г. Екземпляри молюсків збирали у вересні на мілководних ділянках р. Гнізна, притоки р. Серет неподалік автостанції м. Теревовлі та в зоні сільськогосподарських угідь с. Кровінка (с/г зона) Теревовлянського р-ну Тернопільської області. Тварин із с/г зони переселяли у дельту річки після очисних споруд м. Теревовлі, де природна популяція молюсків відсутня, та у лабораторію. Переселених молюсків утримували протягом 14 діб у річці в пластмасових контейнерах, закріплених на дні, а в лабораторії – у ваннах об'ємом 200 л у відстояній, добре аерованій воді, яку змінювали щодні дві доби. Для дослідження використовували травну залозу та

© О.В. Міщук, О.Б. Столяр, 2006.

з'ябра. Відбір тканин та їх дослідження проводили при температурі близько 4 °С.

Визначали вміст окисних модифікацій білків (ОМБ) за концентрацією продуктів реакції з 2,4-динітрофенілгідразином [3]; вміст загального, відновленого (GSH) і окисненого (GSSG) глутатіону – за реакцією з 5,5-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою у кислоторозчинному екстракті 10 % гомогенату тканини до і після відновлення небілкових тіолів боргідрідом [10]. Обчислювали редокс-індекс глутатіону (PI) як  $([GSH]+2[GSSG])/2[GSSG]$ . Вимірювали концентрацію розчинних білків у тканині після центрифугування гомогенату протягом 30 хв при 10 тис. об./хв і 4 °С за методом Лоурі [7], вміст заліза у тканинах – на атомно-адсорбційному спектрофотометрі С-115 після спалювання зразків у нітратній кислоті.

Результати обробляли статистично з визначенням t-критерію Стьюдента. Проводили кореляційний аналіз взаємозалежності рядів даних. Кореляцію вважали вірогідною при  $|r| > r(P=0,95; f=6)=0,71$ .

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Згідно з одержаними нами результатами (табл. 1, рис. 1) беззубка характеризується досить низьким вмістом GSH і високим вмістом GSSG у тканинах порівняно з хребетними тваринами [2]. Разом із тим, відмінність між різними групами молюсків за вмістом тіолів є істотною і закономірною. Беззубки, виловлені біля автостанції, мають у 2-5 разів нижчий рівень GSH та на порядок-два вищий рівень GSSG в тканинах, ніж молюски інших груп. У тканинах молюсків, переселених у дельту річки, зменшився

і РІ глутатіону. Про зменшення вмісту GSH в тканинах мідії із забрудненої зони повідомляє і Реголі [9].

Визначення ОМБ у тканинах беззубки показало, що у тварин із лабораторії та біля автостанції їх вміст у перерахунку на кількість розчинних білків у тканині у декілька разів вищий, ніж у тварин із с/г зони та дельти річки. Проте ця відмінність нівелюється, якщо відносити вміст ОМБ до маси тканини, оскільки у молюсків із лабораторії в обох тканинах, а у молюсків, зібраних біля автостанції, у зябрах вміст розчинних білків у тканинах був значно нижчим, ніж у двох інших групах, причому між вмістом ОМБ і білків існує вірогідна негативна кореляція ( $r=-0,78$ ). Слід зазначити, що зменшення вмісту білків в тканинах молюсків у лабораторних умовах є фактом, який підтверджується іншими роботами [4, 6]. З іншого боку, переселення тварин у дельту річки не призвело до зниження вмісту білків в їх тканинах.

Одним із важливих чинників прооксидантної дії є вміст у тканинах редокс-активного металу заліза, іони якого, не зв'язані у стабільні сполуки, можуть активувати процеси окисної деструкції [8]. Як видно з наших даних, найвищий рівень заліза в тканинах характерний для тварин, виловлених біля автостанції. За даними [9], вміст заліза в тканинах молюсків із забрудненої зони також був вищим, ніж у чистій зоні. Констатація цього факту, поряд із іншими встановленими відмінностями, свідчить про те, що популяція молюсків, яка мешкає у р. Гнізна біля автостанції, зазнає, очевидно,

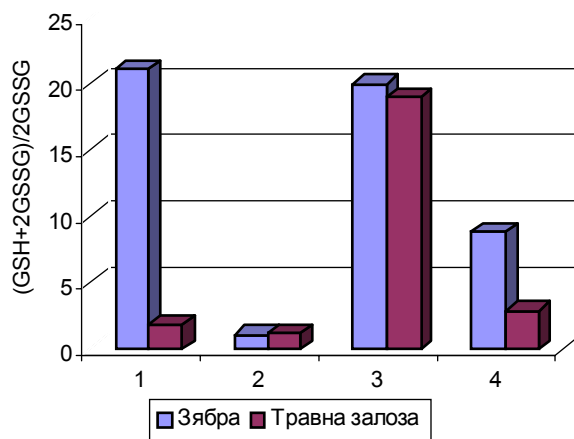


Рис. 1. Редокс-індекс глутатіону в тканинах беззубки: 1 – лабораторія, 2 – автостанція, 3 – с/г зона, 4 – дельта річки.

значного впливу окисативних чинників, що проявляється сукупністю змін досліджуваних показників. Досить високий рівень негативної кореляції існує між вмістом заліза у тканинах тварин та РІ глутатіону ( $r=-0,55$ ). Вивчення антиоксидантного захисту в тканинах прісноводного молюска *Unio tumidus* [5] також показало, що саме зменшення вмісту GSH в зябрах найбільш чутливо характеризує перебування молюска в умовах комплексного природного та модельного забруднення.

**ВИСНОВОК.** Масштаб та характер змін вмісту і ступеня відновлення глутатіону в тканинах молюсків за природних умов існування дозволяють рекомендувати їх для використання у біохімічному тестуванні стану водойм.

Таблиця 1 – Вміст глутатіону, білків та заліза в тканинах беззубки ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )

| Групи тварин  | Вміст білка, мг/г тканини | GSH, мкмоль/г тканини | GSSG, мкмоль/г тканини | ОМБ, ммоль/г білка | Вміст заліза, мкг/г тканини |
|---------------|---------------------------|-----------------------|------------------------|--------------------|-----------------------------|
| Зябра         |                           |                       |                        |                    |                             |
| Лабораторія   | 4,30±0,51                 | 0,68±0,04             | 0,03±0,00              | 151,7±21,0         | 535±49                      |
| Автостанція   | 6,54±1,24                 | 0,37±0,07*            | 2,99±0,26*             | 112,2±15,5         | 814±57*                     |
| С/г зона      | 13,13±1,1*                | 0,99±0,06             | 0,05±0,01              | 54,4±7,4*          | 779±42*                     |
| Дельта річки  | 12,3±1,8*                 | 0,82±0,02             | 0,11±0,02*             | 50,1±2,5*          | 765±56*                     |
| Травна залоза |                           |                       |                        |                    |                             |
| Лабораторія   | 8,64±0,55                 | 1,11±0,09             | 1,31±0,10              | 124,4±15,0         | 832±87                      |
| Автостанція   | 20,22±1,6*                | 0,27±0,04*            | 2,17±0,17*             | 76,4±6,2*          | 821±51                      |
| С/г зона      | 19,88±1,3*                | 0,94±0,04             | 0,05±0,00*             | 68,5±5,0*          | 314±20*                     |
| Дельта річки  | 20,76±1,7*                | 1,25±0,09             | 0,67±0,06*             | 46,2±4,7*          | 541±82*                     |

Примітка. \* – зміни порівняно з показниками лабораторної групи тварин вірогідні,  $p < 0,05$ .

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Афанасьев С.А. Развитие европейских подходов к биологической оценке состояния гидросистем в мониторинге рек Украины // Гидробиол.

журн. – 2001. – 37, № 5. – С. 3-18.

2. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Обмен глутатиона // Успехи биологической химии. – М.:

Наука, 1990. – Т. 31. – С. 157-179.

3. Мешишен І.Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // Буковин. мед. вісник. – 1998. – 2, № 1. – С. 156-158.

4. Столяр О.Б., Грубинко В.В., Михайлів Р.Л., Мищук Е.В. Влияние условий существования на связывание тяжелых металлов и окислительную деструкцию биомолекул в тканях пресноводного двустворчатого моллюска *Anodonta cygnea* // Гидробиол. журн. – 2003. – 39, № 6. – С. 73-82.

5. Doyotte A., Cossu C., Jacquin M.-C. et al. Antioxidant enzymes, glutathione and lipid peroxidation as relevant biomarkers of experimental or field exposure in the gills and digestive gland of the freshwater bivalve *Unio tumidus* // Aquat. Toxicol. – 1997. – 39, № 2. – P. 93-110.

6. Knigge T., Mann N., Parveen Z. et al. Manno-  
somes: a molluscan intracellular tubular membrane

system related to heavy metal stress // Comp. Biochem. Physiol. – 2002. – 131C. – P. 259-269.

7. Lowry O.H., Rosebrough H.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – 191, № 1. – P. 265-275.

8. Morris C.J., Earl J.R., Trenam C.W., Blake D.R. Reactive oxygen species and iron – a dangerous partnership in inflammation // Int. J. Biochem. Cell. Biol. – 1995. – 27, № 2. – P. 109-122.

9. Regoli F. Trace metals and antioxidant enzymes in gills and digestive gland of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* // Arch. Environ. Contam. Toxicol. – 1998. – 34. – P. 48-63.

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

## СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ТКАНЯХ МОЛЛЮСКОВ ИЗ МАЛОЙ РЕЧКИ ГНИЗНА

**Е.В. Мищук, О.Б. Столяр**

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. В. ГНАТЮКА

### Резюме

*Исследование моллюсков, проживающих в различных зонах реки Гнизна, после переселения на 14 суток в лабораторию или в дельту реки показало, что количество и степень окисления глутатиона являются чувствительными показателями качества воды.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** моллюски, комбинированное загрязнение, глутатион, окислительная деструкция белков, железо.

## CONDITION OF ANTIOXIDANT PROTECTION SYSTEM IN TISSUES OF MOLLUSCS FROM SMALL RIVER GNIZNA

**O.V. Mischuk, O.B. Stolyar**

TERNOPIL NATIONAL PEDGOGICAL UNIVERSITY BY V. HNATYUK

### Summary

*The investigations of molluscs from different sites of a river Gnizna and after their transplantation to laboratory or into the river mouth for 14 days demonstrated, that the content and rate of glutathione oxidation are the sensitive parameters of water quality.*

**KEY WORDS:** molluscs, combined pollution, glutathione, oxidative destruction of proteins, ferrum.

**Адреса для листування:** О.В. Міщук, Тернопільський національний педагогічний університет ім. В. Гнатюка, вул. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46009, Україна.

## СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ КРОВІ ВАГІТНИХ З ПЛАЦЕНТАРНОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ

**І.В. Каліновська**

*БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ*

*Плацентарна недостатність у різні гестаційні періоди характеризується пригніченням антиоксидантного захисту крові, що проявляється зниженням рівня відновленого глутатіону та активності каталази і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА: плацентарна недостатність, кров, антиоксидантна система.**

**ВСТУП.** Прогрес сучасної перинатології виявив нові проблеми, пов'язані з гестаційним процесом і антенатальною охороною плода. Серед них провідне місце належить хронічній плацентарній недостатності (ХПН). Будучи частим ускладненням вагітності (за даними різних авторів, від 4 до 22 %), плацентарна недостатність супроводжується гіпоксією, затримкою внутрішньоутробного розвитку плода та є однією з основних причин перинатальної захворюваності й смертності [1].

У зв'язку з перебудовою метаболізму в організмі вагітних жінок, активацією всіх видів обміну речовин, зростає інтенсивність адаптаційних біохімічних реакцій, які супроводжуються збільшенням кількості активних форм кисню (АФК) в органах і тканинах. Останні індукують утворення оксидних сполук, що призводить до активації антиоксидантної системи материнського організму і попереджує розвиток функціональних порушень або патологічних змін у життєво важливих органах і системах організму вагітної [6].

З'ясовано, що під впливом різноманітних екзо- та ендогенних факторів на материнський організм порушується взаємозв'язок процесів ПОЛ і антиоксидантної системи захисту (АОСЗ) у вагітних з плацентарною недостатністю. Тому впровадження в клінічну практику сучасних методів оцінки стану вагітної за наявності плацентарної недостатності дає змогу своєчасно діагностувати, коректувати, прогнозувати ускладнення, зменшити неонатальну захворюваність та смертність [7, 8].

Одним із таких методів є дослідження антиоксидантного захисту організму вагітних

© І.В. Каліновська, 2006.

при різній акушерській патології протягом усього гестаційного періоду.

Метою дослідження було вивчення стану антиоксидантного захисту крові у вагітних з плацентарною недостатністю при різній акушерській патології протягом гестаційного періоду.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Для досягнення поставленої мети проведено дослідження показників АОСЗ у 240 вагітних з проявами плацентарної недостатності в різні гестаційні періоди. Ці жінки склали основну групу, яку поділили на три підгрупи залежно від акушерської патології, яка призвела до виникнення плацентарної недостатності. Вік обстежених становив від 17 до 38 років. Першовагітних було 26 (29 %), повторновагітних – 64 (71 %). Супровідні захворювання спостерігались у 37 жінок (41,1 %), анемія I ступеня – в 22 (25 %), дифузний зоб I ступеня – у 16 (17,7 %), хронічний гастродуоденіт – у 8 (8,8 %), хронічний пієлонефрит – у 13 (14,4 %), 66 жінок основної групи мали ускладнений акушерський анамнез. У 45 вагітних (64 %) були самовільні викидні терміном до 13 тижнів, у 15 (21,5 %) – відмерлі вагітності в анамнезі. У 10 жінок (11,1 %) основної групи вагітність була відмерлою в термін 5-6 тижнів, у 5 (5,5 %) був самовільний викидень до 8 тижнів, а решта 75 жінок лікувалися через загрозу переривання вагітності й продовжували її виношувати. Усіх вагітних основної групи поділили на три підгрупи. До 1-ї ввійшли 80 вагітних з гестозом або екстрагенітальною патологією, в анамнезі яких були невиношування вагітності, прояви гестозів під час попередніх вагітностей (26



жінок), за даними УЗД, в них виявлено явища загрози переривання вагітності.

2-гу підгрупу склали 80 вагітних, які в анамнезі мали відмерлі вагітності, народили дітей з малою масою до гестаційного терміну, за даними УЗД, при госпіталізації в стаціонар у них було виявлено часткове відшарування хоріона та відставання розмірів плідного яйця від гестаційного терміну або затримку розвитку плода під час цієї вагітності.

До 3-ї підгрупи віднесено вагітних (82 жінки), в анамнезі яких спостерігалася загроза переривання попередніх вагітностей, або першовагітних, які лікувалися з приводу загрози переривання вагітності, низької імплантації плідного яйця, нечіткої візуалізації ембріона, а також проявів гіпоксії внутрішньоутробного плода під час даної вагітності. Контрольну групу склали 60 соматично здорових жінок віком 20-37 років із фізіологічним перебігом вагітності, без обтяженого акушерського анамнезу, з терміном вагітності від 4 до 40 тижнів.

Для встановлення нормальних показників антиоксидантної системи було досліджено кров 18 здорових жінок репродуктивного віку (22-28 років).

Кров для дослідження брали натщесерце з ліктьової вени (3-4 мл) в гепаринізовані пробірки, центрифугували її 10 хв при 3000 об./хв. Відбирали плазму, а одержані еритроцити тричі відмивали охолодженим фізіологічним розчином хлориду натрію і немолізували в такому ж об'ємі бідистильованої води. У плазмі крові та еритроцитах визначали вміст відновленого глутатіону [2] та активність ферментів глюкозо-6-фосфатдегідрогенази [3], глутатіонредуктази [9], глутатіонпероксидази [2], каталази [5] та церулоплазміну [4]. Вірогідність результатів оцінювали за критерієм Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Як свідчать результати наших досліджень, рівень церулоплазміну в плазмі крові жінок із фізіологічним перебігом вагітності (контрольна група) був підвищеним у середньому від 14 до 32 % порівняно з жінками репродуктивного віку. Разом із тим, активність каталази в еритроцитах знизилась на 12-18 %. Активність глутатіон-

пероксидази в еритроцитах достовірно зросла ( $p < 0,05$ ) у породілей в терміні 28-40 тижнів. Не виявлено відмінностей в активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази і глутатіонредуктази. Вміст відновленого глутатіону в еритроцитах здорових вагітних мав лише тенденцію до зниження в першій і останній триместри вагітності.

Збільшення вмісту церулоплазміну в плазмі крові при всіх термінах фізіологічної вагітності може бути зумовлене як активацією вільнорадикальних процесів, так і підвищеним використанням плодом заліза у формі  $Fe^{2+}$ . Відсутність змін в активності Г-6ФД і глутатіонредуктази свідчить про видимі відсутність напруги цих антиоксидантних компонентів.

Плацентарна недостатність у вагітних всіх досліджених груп характеризувалася змінами показників антиоксидантної системи крові. У першому триместрі вагітності спостерігалися достовірне зниження в еритроцитах рівня відновленого глутатіону (в середньому на 16,5 %), активності каталази (в середньому на 22,4 %) і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (в середньому на 15,7 %) та підвищення активності церулоплазміну (в середньому на 34 %), глутатіонпероксидази (на 16,2 %) і глутатіонредуктази (в середньому на 14,6 %).

Найбільш виражені зміни мали місце у третьому триместрі вагітності.

Таким чином, як фізіологічний перебіг вагітності, так і, особливо, плацентарна недостатність у вагітних характеризуються недостатністю антиоксидантного захисту їх організму. Можна зробити висновок, що одним із провідних факторів патогенезу плацентарної недостатності є зрив антиоксидантного захисту, що зумовлює розвиток синдрому пероксидації. Це, у свою чергу, викликає пошкодження клітинних мембран, інактивацію і трансформацію ферментативних систем, порушення окисно-відновлювальних процесів з розвитком гіпоксії в організмі матері та плода.

**ВИСНОВОК.** Плацентарна недостатність у вагітних у різні гестаційні періоди характеризується пригніченням антиоксидантного захисту крові, що проявляється зниженням рівня відновленого глутатіону та активності каталази і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Герасимович Г.И. Плацентарная недостаточность // Здравоохранение. – 1999. – № 9. – С. 12-17.
2. Геруш І.В., Мецишен І.Ф. Стан глутатіонової системи крові за умов експериментального

- виразкового ураження гастродуоденальної зони та дії настоянки ехінацеї пурпурової // Вісник проблем біології та медицини. – 1998. – № 7. – С. 10-15.

3. Захарьян Ю.Л. Метод определения актив-

ности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы // Лаб. дело. – 1967. – № 6. – С. 327-330.

4. Камышник В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика. Справочник. – Минск: Интерпрессервис, 2003. – Т. II. – 463 с.

5. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-18.

6. Макачук О.М. Стан антиоксидантного за-

хисту організму та вплив перекисного окислення ліпідів на поверхневу архітектуру еритроцитів вагітних з гестаційною анемією // Вісник наук. досліджень. – 2004. – № 1. – С. 61-63.

7. Радзинский В.Е., Ордянец И.М. Плацентарная недостаточность при гестозе // Акуш. и гинекол. – 1999. – № 1. – С. 11-16.

8. Фёдорова М.В. Плацентарная недостаточность // Акуш. и гинекол. – 1997. – № 5. – С. 40-43.

## СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ БЕРЕМЕННЫХ С ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

**И.В. Калиновская**

*БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ*

### **Резюме**

*Плацентарная недостаточность в разные гестационные периоды характеризуется угнетением антиоксидантной защиты крови, что проявляется снижением уровня восстановленного глутатиона и активности каталазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** плацентарная недостаточность, кровь, антиоксидантная система.

## CONDITION OF BLOOD ANTIOXIDANT SYSTEM IN PREGNANT WOMEN WITH PLACENTAL INSUFFICIENCY

**I.V. Kalinovska**

### **Summary**

*Placental insufficiency during various gestation periods is characterized by oppression of blood antioxidant defence which is manifested in decrease of reduced glutathion level as well as catalase and glucose-6-phosphated dehydrogenase activity.*

**KEY WORDS:** placental insufficiency, blood, antioxidant system.

**Адреса для листування:** *І.В. Каліновська, Буковинський державний медичний університет, Чернівці, Україна.*

## ВПЛИВ КОМПОЗИЦІЇ "МАГНЕЛОНГ", ГЛІЦИНУ, ЕМОКСИПІНУ ТА ПІРАЦЕТАМУ НА РОЗВИТОК ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В МОЗКУ ЩУРІВ З ГОСТРИМИ ПОРУШЕННЯМИ МОЗКОВОГО КРОВООБІГУ (ІШЕМІЧНИЙ ІНСУЛЬТ)

І.Ф. Беленічев, С.В. Горбачова, В.В. Головкін, Н.В. Бухтіярова  
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

*У статті викладено результати дослідження нейропротективної дії гліцину, емоксипіну, пірацетаму та композиції "Магнелонг" за умов моделювання гострих порушень мозкового кровообігу. Показано, що композиційна лікарська форма "Магнелонг" володіє значними нейропротективними властивостями, які полягають у зменшенні летальності та неврологічної симптоматики, нормалізації біохімічних показників оксидативного стресу.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** глутаматна ексайтотоксичність, ішемічний інсульт, неврологічний дефіцит, оксидативний стрес.

ВСТУП. Зусилля сучасної медицини спрямовані на інтенсифікацію засобів профілактики та лікування судинних захворювань головного мозку – однієї з основних причин смертності населення промислово розвинутих країн. Відомо, що у механізмі пошкоджувальної дії ішемії головного мозку лежить енергодефіцит, який призводить до підвищення продукції глутамату, що має нейротоксичну дію, формування кальцієвого перевантаження нейрона, активації вільнорадикальних процесів [7, 8].

У зв'язку з цим, найбільшої уваги щодо ефективності лікування ішемічного інсульту заслуговує "первинна нейропротекція", яку починають з моменту захворювання. Вона спрямована на переривання глутаматкальцієвого каскаду. Серед засобів первинної нейропротекції відомі антагоністи L-типу кальцієвих каналів (ісрадипін, цереброкраст, німодипін), антагоністи фенциклінового, глутамінового та поліамінового сайтів NMDA-рецепторів (дизоліципін, церестат, селфотел, еліпродил і т. д.). За умов ішемії ГАМК модулює активність головного збудливого нейротрансмітера – глутамату, створює стійку рівновагу між збудливими та гальмівними системами [4, 10].

Виходячи з цього, ми створили композиційну лікарську форму (сироп), яка містить в експериментально обґрунтованих концентраціях солі магнію, ГАМК і гліцин під назвою "Магнелонг". Метою даного дослідження було

вивчення нейропротективної дії композиції "Магнелонг" при моделюванні гострого порушення мозкового кровообігу (ГПМК) за впливом на розвиток оксидативного стресу в тканинах мозку тварин та за впливом на прояви неврологічного дефіциту.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** У дослідах використовували 60 щурів-самців лінії Вістар масою 180-200 г. Для створення ГПМК застосовували класичну модель, яка полягає в одночасній перев'язці загальних сонних артерій [2]. Операцію проводили під етамінал-натрієвим наркозом (40 мг/кг). Через розріз на шиї знаходили та відсепаровували праву і ліву сонні артерії, підводили під них лігатури та перев'язували.

Усіх тварин було поділено на 6 експериментальних груп: 1-ша – інтактна (несправжньооперовані щури, яким під наркозом відсепаровували загальні сонні артерії, не перев'язуючи їх); 2-га – щури з ГПМК; 3-тя – щури з ГПМК, які отримували композицію "Магнелонг" кожного дня протягом 4 діб у дозі 1 мл/кг; 4-та – щури з ГПМК, які кожного дня протягом 4 діб одержували емоксипін у дозі 100 мг/кг; 5-та – щури з ГПМК, які отримували кожного дня протягом 4 діб пірацетам у дозі 250 мг/кг; 6-та – щури з ГПМК, які одержували кожного дня протягом 4 діб гліцин у дозі 200 мг/кг. Усі препарати вводили перорально за допомогою зонда, починаючи з виходу щурів із наркозу.

© І.Ф. Беленічев, С.В. Горбачова, В.В. Головкін, Н.В. Бухтіярова, 2006.

Кожного дня з першої по четверту добу у тварин оцінювали вираження неврологічного дефіциту за шкалою С.Р. McGrow [2]. Тяжкість стану визначали за сумою відповідних балів, відзначали парези, паралічі кінцівок, тремор, манежні рухи, птоз, положення на боці, рухливість, як прояв неврологічного дефіциту розглядали утримання щурів на стержні діаметром 15 см, що обертається зі швидкістю 3 об./хв. На 4-ту добу експерименту, через 2 год після тестування, щурів виводили з експерименту під етамінал-натрієвим наркозом (40 мг/кг). Мозок швидко виймали, виділяли кору, яку гомогенізували у рідкому азоті. У гомогенаті кори біохімічними методами визначали вміст продуктів окиснювальної модифікації білка (ОМБ) за рівнем ступеня фрагментації при довжині хвилі 254, 272 та 280 нм і за рівнем альдегідних (АФГ) та карбоксильних (КФГ) продуктів ОМБ при реакції із 2,4-динітрофенілгідразином [7]. Також визначали вміст дієнових кон'югатів (ДК), триєнкетонів (ТК) та маленового діальдегіду (МДА) [3]. Стан антиоксидантної системи визначали за активністю супероксиддисмутази (СОД), каталази, глутатіонпероксидази (ГПР) у корі мозку. Активність NO-синтази – за швидкістю зменшення кількості НАДФН<sup>+</sup>. Вміст нітратів – за реакцією Гріса [3]. Отримані результати обробляли за допомогою комп'ютерної програми "Biostat".

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Моделювання ГПМК шляхом двосторонньої перев'язки загальних сонних артерій викликало тяжкі неврологічні порушення у 100 % контрольних тварин (на 4-ту добу спостерігався середній бал 11,6) (табл. 1). У групах щурів, які отримували експериментальну терапію композицією "Магнелонг", гліцином та емоксипіном, кількість тварин з тяжкою симптоматикою була достовірно меншою, ніж у контролі, достовірно знижувалась летальність щурів із ГПМК.

На цьому фоні значно виділялася композиція "Магнелонг", яка майже у 2 рази знижувала виникнення неврологічної симптоматики та летальності, переважаючи за цими показниками пірацетам, гліцин та емоксипін (див. табл. 1).

У результаті проведених досліджень виявлено, що двостороння перев'язка загальних сонних артерій призводить до значного (двократного) збільшення стабільного метаболіту NO – NO<sub>2</sub><sup>-</sup> і підвищення (у 2,4 рази) активності NO-синтази на 4-ту добу експерименту, що свідчить про гіперпродукцію NO. Подібні дані отримані нами раніше, а також іншими дослідниками, на моделях ішемії мозку, що викликана

оклюзією середньої мозкової артерії та тимчасовою чотиристоронньою оклюзією мозкової артерії [10]. У тварин з менш вираженим ступенем неврологічної симптоматики рівень цих показників був невисоким. Останнім часом досить широко висвітлюється питання про роль оксиду азоту та його більш агресивних форм у розвитку оксидативного стресу при ГПМК [9]. Більшість авторів стверджує, що гіперпродукція NO, яка зумовлена активацією NMDA-рецепторів, не тільки призводить до безпосереднього пошкодження білкових структур нейрона (рецептори, іонні канали, ферменти) в гострий період ГПМК, але й бере участь в опосередкованих та відстрочених пошкодженнях нейронів (апоптоз і т. ін.) [7]. Таке судження підтверджується нашими досліджуваними показниками, що у тварин з ГПМК спостерігалось збільшення у корі мозку вмісту продуктів ОМБ – АФГ та КФГ, ступенем фрагментації молекули, а також ДК, ТК та МДА (табл. 3 та 4). Збільшення вмісту продуктів вільнорадикальних реакцій відбувалося на фоні пригнічення активності антиоксидантних ферментів СОД, каталази, ГПР (див. табл. 3).

Ефекти досліджуваних препаратів відносно продукції NO (табл. 2) різні за силою, збігаються з їх впливом на неврологічну симптоматику. Найбільш ефективною у цьому відношенні виявилася композиція "Магнелонг", яка за показниками, що вивчалися, перевищувала емоксипін, пірацетам та свій компонент – гліцин. Введення композиції "Магнелонг", гліцину та емоксипіну призводило до зменшення (p<0,05) вмісту продуктів ОМБ – АФГ і КФГ, МДА у корі мозку тварин з ГПМК.

Так, солі магнію, пригнічуючи збудження NMDA-рецепторів потенціалзалежним шляхом [5], попереджують кальційзалежну гіперактивацію NO-синтази та продукцію NO і, в подальшому, обмежують вплив оксидативного стресу. Ряд авторів підтверджує нейропротективну дію солей магнію на різних моделях ішемії [6]. Гліцин, завдяки зв'язуванню з гліциновими сайтами NMDA-рецепторів, забезпечує нормальне функціонування цього рецепторно-іоноформного комплексу, попереджуючи його гіперактивацію та, тим самим, обмежуючи глутаматну ексайтотоксичність і, можливо, посилюючи дію іонів магнію [1]. Цим і пояснюються отримані нами дані щодо зниження оксидативного стресу при введенні гліцину як у монотерапії, так і в складі композиції "Магнелонг". Слід відзначити, що гліцин, який призначають самостійно в дозі, у 2 рази вищій, ніж у складі магнелонгу, поступається за ефективністю останньому.

Таблиця 1 – Вплив композиції "Магнелонг" на розвиток неврологічного дефіциту у щурів з ГПМК на 4-ту добу експерименту

| Групи тварин             | Кількість щурів з тяжкою симптоматикою, % | Середній бал за шкалою С.Р. McGrow | Кількість тварин, які вижили, % |
|--------------------------|---|------------------------------------|---------------------------------|
| Інтактні тварини         | 0   | 2,00±0,5                           | 100                             |
| Тварини з ГПМК           | 100                                       | 11,6±3,00                          | 30                              |
| Тварини з ГПМК+магнелонг | 50 <sup>^</sup> °#                        | 5,00±0,52 <sup>^</sup> °#          | 90 <sup>^</sup> °#              |
| Тварини з ГПМК+емоксипін | 70 <sup>^</sup>                           | 6,20±0,44 <sup>^</sup>             | 70 <sup>^</sup>                 |
| Тварини з ГПМК+пірацетам | 90  | 8,80±1,77*                         | 50                              |
| Тварини з ГПМК+гліцин    | 70  | 6,80±2,12*                         | 70 <sup>^</sup>                 |

Примітка. Тут і далі: \* – p<0,05 відносно контролю; ^ – p<0,05 відносно групи тварин, які отримували пірацетам; # – p<0,05 відносно групи тварин, які отримували гліцин; ° – p<0,05 відносно групи тварин, які отримували емоксипін.

Таблиця 2 – Вплив композиції "Магнелонг" на вміст стабільних метаболітів оксиду азоту та активність NO-синтази в ішемізованому мозку щурів на 4-ту добу ГПМК

| Групи тварин             | NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мкмоль/г білка | NO-синтаза, нмоль/г тканини/хв |
|--------------------------|---|--------------------------------|
| Інтактні тварини         | 18,3±0,72                                     | 2,37±0,52                      |
| Тварини з ГПМК           | 47,9±0,37                                     | 4,84±0,48                      |
| Тварини з ГПМК+магнелонг | 26,0±0,33 <sup>^</sup> °#                     | 2,00±0,27 <sup>^</sup> °#      |
| Тварини з ГПМК+емоксипін | 32,8±0,62 <sup>^</sup>                        | 3,30±0,72 <sup>^</sup>         |
| Тварини з ГПМК+пірацетам | 40,0±1,00                                     | 4,21±0,23                      |
| Тварини з ГПМК+гліцин    | 35,7±0,52 <sup>^</sup>                        | 3,68±0,67 <sup>^</sup>         |

Таблиця 3 – Вплив композиції "Магнелонг" на окиснювальну модифікацію білка (ОМБ) в ішемізованому мозку на 4-ту добу ГПМК

| Групи тварин             | Ступінь фрагментації білка, ум.од./г білка |           |           | Продукти ОМБ, ум.од./г білка |                         |
|--------------------------|--|-----------|-----------|------------------------------|-------------------------|
|                          | 254 нм                                     | 272 нм    | 280 нм    | АФГ (270 нм)                 | КФГ (363 нм)            |
| Інтактні тварини         | 2,5±0,03                                   | 1,2±0,01  | 0,89±0,01 | 6,12±0,02                    | 8,87±0,17               |
| Тварини з ГПМК           | 7,8±0,04                                   | 6,0±0,03  | 3,72±0,03 | 12,6±0,14                    | 27,0±0,42               |
| Тварини з ГПМК+магнелонг | 6,3±0,09*                                  | 3,7±0,01* | 3,00±0,02 | 6,55±0,10 <sup>^</sup>       | 9,1±0,11 <sup>°</sup> # |
| Тварини з ГПМК+емоксипін | 6,2±0,07*                                  | 3,2±0,02* | 2,88±0,05 | 7,41±0,11*                   | 16,2±0,27*              |
| Тварини з ГПМК+пірацетам | 7,2±0,04                                   | 4,8±0,07  | 4,0±0,07  | 11,7±0,12                    | 23,6±0,21               |
| Тварини з ГПМК+гліцин    | 6,9±0,09                                   | 4,0±0,02  | 3,55±0,02 | 8,40±0,07*                   | 16,8±0,22*              |

Таблиця 4 – Вплив композиції "магнелонг" на показники антиоксидантної системи та вільнорадикального окиснення в ішемізованому мозку щурів на 4-ту добу ГПМК

| Групи тварин             | СОД, ум.од./мг білка/хв   | Каталаза, мкат/мг білка/хв | ГПР, мкмоль/мг білка/хв | ДК, мкм/г тканини | ТК, мкм/г тканини      | МДА, мкм/г тканини       |
|--------------------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------|------------------------|--------------------------|
| Інтактні тварини         | 283,4±11,6                | 7,82±0,77                  | 72,4±4,8                | 1,16±0,12         | 0,48±0,01              | 0,54±0,04                |
| Тварини з ГПМК           | 78,6±6,21                 | 2,44±0,31                  | 32,7±0,12               | 2,42±0,31         | 1,37±0,20              | 1,20±0,02                |
| Тварини з ГПМК+магнелонг | 188,7±7,2 <sup>°</sup> од | 4,78±0,12*                 | 58,7±0,10*              | 1,72±0,08*        | 0,62±0,04 <sup>^</sup> | 0,56±0,02 <sup>°</sup> # |
| Тварини з ГПМК+емоксипін | 137,6±10,7 <sup>!</sup>   | 4,62±0,20*                 | 52,6±0,11*              | 2,05±0,09         | 0,77±0,05 <sup>^</sup> | 0,72±0,03 <sup>!</sup>   |
| Тварини з ГПМК+пірацетам | 98,5±5,72                 | 3,00±0,48                  | 38,6±0,11               | 2,20±0,10         | 1,00±0,06              | 1,05±0,03                |
| Тварини з ГПМК+гліцин    | 110,6±4,21*               | 3,25±0,37                  | 40,0±0,21               | 2,05±0,21         | 0,80±0,04*             | 0,87±0,02*               |

ГАМК обмежує збудливий стимул як пресинаптично, так і постсинаптично [4], знижуючи глутамат-аспартатне збудження нейрона, посилюючи потенціалзалежне гальмування активності NMDA-рецепторів, особливо у корі мозку, гіпокампі, стовбурі мозку та мозочку [10]. Цим впливом можна пояснити і сумарний нейропротективний ефект магнелонгу.

ВИСНОВКИ. Моделювання ГПМК шляхом двосторонньої перев'язки загальних сонних

артерій викликає тяжкі неврологічні порушення в експериментальних тварин. Введення дослідним щурам у гострий період мозкового інсульту емоксипіну, пірацетаму, гліцину та композиції "Магнелонг" призводить до зниження летальності та проявів неврологічного дефіциту. Композиційна лікарська форма "Магнелонг" має значні нейропротективні властивості, які полягають у зниженні неврологічної симптоматики, нормалізації біохімічних показників оксидативного стресу.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Астахов А. Гліцисед КМП: просто амінокислота чи універсальні ліки проти стресу? // Ліки України. – 2004. – № 1. – С. 35-36.
2. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения: Пер. с англ. – М.: Высшая школа, 1991. – 399 с.
3. Горбунов Н.В. Активация образования окиси азота, опосредованная метаболитами глутаматными рецепторами в первичных культурах клеток зерен мозжечка // Бюл. exper. биологии и медицины. – 1995. – № 7. – С. 40-48.
4. Громов Л. Фармакологічний профіль дії ГАМК-ергічних препаратів в ряду психотропних засобів // Механізм дії ліків. – 2001. – № 1. – С.22-25.
5. Громова О.В., Никонов А.А. Роль и значение магния в патогенезе заболеваний нервной системы // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2002. – 102, № 12. – С. 62-66.
6. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. – М.: Медицина, 2001. – 328 с.
7. Дубкіна О.Ю. Окислювальний стрес і окислювальна модифікація білків // Мед. хімія. – 2001. – 3, № 2. – С. 43-45.
8. Поварова О.В., Городецкая Е.И., Медведев О.С. Антиоксиданты как нейропротекторы при ишемическом инсульте // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2003. – 66, № 3. – С. 69-73.
9. Харкевич Д.А. Основные направления создания новых лекарственных средств // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2003. – 66, № 3. – С. 74-79.
10. Хижняк А.А., Курсов С.В. Участие возбуждающих аминокислотных трансмисмиттеров в механизмах нейродеструкции и перспективные методы патогенетической коррекции // Біль, знеболювання, інтенсивна терапія. – 2003. – № 1. – С.43-46.

### ВЛИЯНИЕ КОМПОЗИЦИИ "МАГНЕЛОНГ", ГЛИЦИНА, ЭМОКСИПИНА И ПИРАЦЕТАМА НА РАЗВИТИЕ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА В МОЗГЕ КРЫС С ОСТРЫМИ НАРУШЕНИЯМИ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ (ИШЕМИЧЕСКИЙ ИНСУЛЬТ)

**И.Ф. Беленичев, С.В. Горбачева, В.В. Головкин, Н.В. Бухтиярова**  
ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

#### Резюме

*В статье изложены результаты исследования нейропротективного действия глицина, эмоксипина, пирарцетама и композиции "Магнелонг" в условиях моделирования острых нарушений мозгового кровообращения. Показано, что композиционная лекарственная форма "Магнелонг" имеет значительные нейропротективные свойства, которые заключаются в уменьшении летальности, неврологической симптоматики, нормализации биохимических показателей оксидативного стресса.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** глутаматная эксайтотоксичность, ишемический инсульт, неврологический дефицит, оксидативный стресс.

### INFLUENCE OF COMPOSITION "MAGNELONG", GLYCINE, EMOXIPINE AND PYRACETAM ON THE OXIDATIVE STRESS DEVELOPMENT IN BRAIN OF RATS WITH INFRIGEMENTS OF BRAIN CIRCULATION (ACUTE ISCHEMIC STROKE)

**I.F. Belenischev, S.V. Gorbachova, V.V. Golovkin, N.V. Bukhtiyarova.**  
ZAPORIZHZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

#### Summary

*The article adduces the results of investigation of glycine, emoxipine, pyracetam and composition "Magnelong" neuroprotective properties under conditions of acute ischemic stroke modeling. It is shown that medicinal composition form "Magnelong" has substantial neuroprotective properties which declare themselves in lethality reduce, neurological symptomatology, oxidative stress biochemical indices normalization.*

**KEY WORDS:** glutamate exitotoxicity, ischemic stroke, neurological deficite, oxidative stress.

**Адреса для листування:** І.Ф. Беленічев, Запорізький державний медичний університет, Запоріжжя, Україна.

## ПРОЦЕСИ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ ТА АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В СЛИЗОВИХ ОБОЛОНКАХ ШЛУНКА І ТОВСТОЇ КИШКИ ЗА УМОВ ПОЄДНАНОЇ ДІЇ ЛАНСОПРАЗОЛУ З ПРОГЛУМІДОМ ТА НІМЕСУЛІДОМ У ЩУРІВ

В.Й. Кімакович, П.О. Склярів

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

*В експериментах на 32 білих щурах-самцях при дії лансопразолу, лансопразолу з проглумідом та лансопразолу з німесулідом показано зміни процесів ліпопероксидації, активності ензимів антиоксидантного захисту (СОД, каталаза), вмісту оксиду азоту в слизових оболонках шлунка та товстої кишки.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:**  $H^+, K^+$ -АТФаза, лансопразол, проглумід, німесулід, процеси ліпопероксидації.

ВСТУП. Блокатори  $H^+, K^+$ -АТФази (омепразол, лансопразол, рабепразол) широко використовують при лікуванні гіперацидних станів шлунка. Механізм їх дії полягає в утворенні дисульфідних зв'язків з цистеїнами – 321, 813, 822, 892 а-субодиниці  $H^+, K^+$ -АТФази, внаслідок чого гальмується секреція хлоридної кислоти парієтальними клітинами шлункових залоз [16].

$H^+, K^+$ -АТФаза локалізується як на апікальній мембрані парієтальних клітин шлункових залоз, так і на мембранах епітеліальних клітин та мембранах нейронів автономної нервової системи товстої кишки [12, 15]. Основна роль  $H^+, K^+$ -АТФази товстої кишки пов'язана із реабсорбцією іонів калію та регуляцією внутрішньоклітинного рН [9, 10]. Блокування  $H^+, K^+$ -АТФази призводить до зростання концентрації гастрину в крові [13, 18], який стимулює процеси проліферації та сприяє активації канцерогенезу в різних органах травної системи, в тому числі й у товстій кишці [19, 20]. Гастрин взаємодіє із ССК-2 рецепторами епітеліоцитів, що призводить до активації внутрішньоклітинних шляхів, включаючи протеїнкіназу А, протеїнкіназу С, мітогенактивуючу протеїнкіназу та кальційзалежні шляхи [7, 21]. Блокування  $H^+, K^+$ -АТФази лансопразолом підвищує експресію в слизових оболонках шлунка та товстої кишки (СОШ та СОТК) ЦОГ-2 [18].

У зв'язку з цим, метою дослідження було вивчення змін процесів ліпопероксидації, активності ензимів антиоксидантного захисту та вмісту оксиду азоту в слизових оболонках шлунка та товстої кишки щурів за умов тривалого введення лансопразолу, лансопразолу

та блокатора ССК-2 рецепторів проглуміду, лансопразолу та блокатора ЦОГ-2 німесулід.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження, згідно з міжнародними нормами роботи з лабораторними тваринами, було проведено на 32 білих щурах-самцях. Виконано три серії досліджень: у першій вивчали зміни процесів ліпопероксидації, активності ензимів антиоксидантного захисту та стабільного метаболіту оксиду азоту ( $NO_2^-$ ) в слизових оболонках шлунка і товстої кишки при блокуванні  $H^+, K^+$ -АТФази лансопразолом (Україна) у дозі 30 мг/кг за умов його перорального введення протягом 14 днів; у другій – при поєднаному введенні лансопразолу та блокатора ССК-2 рецепторів проглуміду в дозі 250 мг/кг [11] за умов їх перорального введення протягом 14 днів; у третій – при поєднаному введенні лансопразолу та блокатора ЦОГ-2 німесулід в дозі 10 мг/кг [6] за умов перорального введення протягом 14 днів.

Процеси ліпопероксидації оцінювали, визначаючи вміст малонового діальдегіду [3], активність ензимів антиоксидантного захисту – СОД [2] та каталази [1]. Для визначення вмісту оксиду азоту використовували реактив Грися [5, 17]. Результати обробляли за методом варіаційної статистики з визначенням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Після десятиденного блокування  $H^+, K^+$ -АТФази лансопразолом спостерігалось зменшення на 30 % вмісту МДА у СОШ та на 33 % у СОТК (рис. 1). Вміст оксиду азоту змінювався незначно. При цьому відбувалось різке підвищен-

ня активності СОД у слизових оболонках шлунка (у 2 рази) та товстої кишки (на 131 %,  $p < 0,05$ ) (рис. 2), активність каталази змінювалась недостовірно.

У другій серії досліджень, при поєднаній дії лансопразолу та блокатора ССК-2 гастринових рецепторів проглуміду, вміст МДА, порівняно із впливом одного лансопразолу, у СОШ та СОТК зростав на 24 та 32 % відповідно. Активність СОД та каталази зменшувалась і була на рівні контрольних тварин.

У третій серії досліджень під час визначення ролі ЦОГ-2 при блокуванні  $H^+, K^+$ -АТФази лансопразолом відзначено, що активність процесів ліпопероксидації зростала у СОШ на 52 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з показниками при дії одного лансопразолу, а у СОТК – на 16 % ( $p > 0,05$ ). Вміст оксиду азоту зменшувався як у СОШ, так і СОТК (див. рис. 1, 2). Знижувалась активність СОД та каталази: у СОШ – на 32 %, у СОТК – на 58 % порівняно з показниками при дії лансопразолу.

Отже, блокування лансопразолом  $H^+, K^+$ -АТФази призводить до зміни співвідношення процесів ПОЛ та активності ферментів антиоксидантного захисту в СОШ і СОТК. Якщо у СОШ зменшення процесів ПОЛ пов'язане із пригніченням функціональної діяльності парієтальних клітин, то у СОТК зниження вмісту МДА, можливо, залежить від пригнічення активності  $H^+, K^+$ -АТФази епітеліальних клітин, роль якої полягає в енергозалежному всмоктуванні іонів калію та підтримці осмотичного тиску цитоплазми ендотеліальних клітин [4]. Звертає на себе увагу підвищення активності СОД, що, можливо, пов'язано з тим, що лансопразол гальмує кінцевий етап виділення протонів, тоді як на рецептори парієтальних клітин діють інші стимулятори – ацетилхолін, гістамін, гастрин,

які активують внутрішньоклітинні вторинні сигнальні шляхи, що призводить до зростання активних форм кисню. На епітеліальні клітини товстої кишки лансопразол також впливає зі сторони апікальної мембрани, тоді як зі сторони базолатеральної – гастрин та інші біологічно активні речовини. Зміна балансу між процесами ліпопероксидації та активністю ферментів антиоксидантного захисту при дії лансопразолу може бути одним із факторів, що активує канцерогенез. Раніше було відзначено, що дія лансопразолу призводила до зменшення процесів ліпопероксидації та зниження розвитку запалення слизової оболонки тонкої кишки [8].

У зв'язку з тим, що тривале блокування  $H^+, K^+$ -АТФази призводить до гіпергастринемії, необхідно було визначити, як змінюються процеси ліпопероксидації та активність СОД і каталази при блокуванні ССК-2 гастринових рецепторів проглумідом. Отримані нами результати свідчать про зменшення впливу гастрину на процеси ліпопероксидації: рівень продуктів тіобарбітурової кислоти зростав порівняно з показниками при дії лансопразолу, активність СОД та каталази зменшувалась, тобто показники процесів ліпопероксидації та активності ферментів антиоксидантного захисту поверталися до показників контрольної групи тварин. Це свідчить про суттєвий блокуючий вплив проглуміду.

При одночасних введенні лансопразолу та блокуванні ЦОГ-2 німідом вміст продуктів тіобарбітурової кислоти зростав порівняно з дією лансопразолу, активність СОД та каталази зменшувалась, відзначалося зниження вмісту оксиду азоту.

Лансопразол (у дозі 0,5-50 мг/кг при введенні протягом 14 днів) підвищував у СОШ

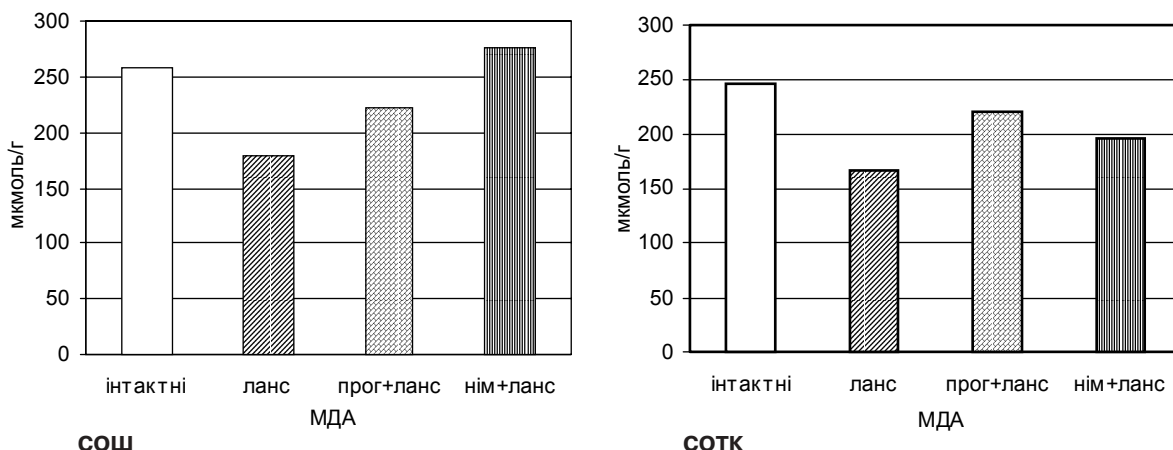


Рис. 1. Зміни вмісту продуктів тіобарбітурової кислоти у СОШ та СОТК за умов дії лансопразолу, лансопразолу з проглумідом, лансопразолу з німеслідом.

Примітка. \* – зміни достовірності ( $p < 0,05$ ) відносно інтактних тварин; # – зміни достовірності ( $p < 0,05$ ) відносно дії лансопразолу.



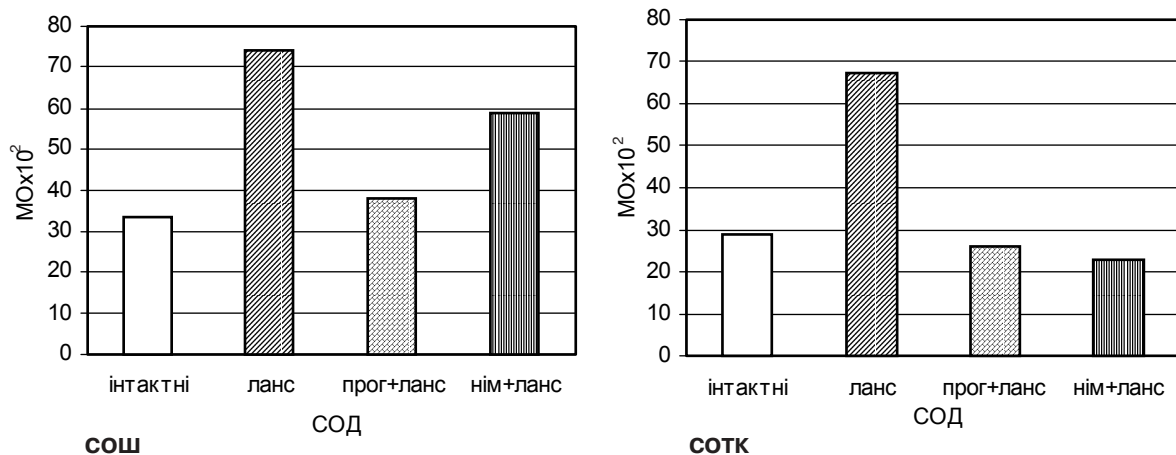


Рис. 2. Зміни активності СОД у СОШ та СОТК за умов дії лансопразолу, лансопразолу з проглюмідом, лансопразолу з німесулідом.

вміст ПГЕ<sub>2</sub> та активував експресію в слизовій оболонці ЦОГ-2, при цьому зростає рівень гастрину в крові та спостерігався цитопротекторний ефект. Специфічний інгібітор ЦОГ-2 (NS-398) знижував лансопразоліндуковане підвищення ПГЕ<sub>2</sub> в слизовій оболонці та слизову протекцію [18]. Блокування ЦОГ-2 селективним інгібітором німесулідом зменшувало у товстій кишці кількість аберацій у клітинах крипт, одночасно значно активувались процеси апоптозу разом із експресією ЦОГ-2 [14].

Отже, на фоні блокування Н<sup>+</sup>,К<sup>+</sup>-АТФази у тварин з інтактною слизовою оболонкою відзначалася однонаправленість змін процесів ліпопероксидації та активності ензимів антиоксидантного захисту (СОД і каталази) у СОШ та СОТК, які зумовлені зменшенням впливу гастрину та ПГЕ<sub>2</sub>.

**ВИСНОВКИ.** 1. Блокування Н<sup>+</sup>,К<sup>+</sup>-АТФази лансопразолом у тварин з інтактною слизовою

оболонкою шлунка та товстої кишки призводить до зменшення активності процесів ліпопероксидації, збільшення активності СОД та каталази, що може бути одним із факторів, який призводить до підвищення канцерогенезу.

2. За умов поєднаного блокування ССК-2 гастринових рецепторів проглюмідом та ЦОГ-2 німесулідом з лансопразолом відзначаються зростання процесів ліпопероксидації та зменшення активності СОД і каталази, що виявляє модулюючу роль гастрину та ПГЕ<sub>2</sub> у регуляції оксидативних процесів у слизових оболонках шлунка та товстої кишки.

3. Незважаючи на різну функціональну роль Н<sup>+</sup>,К<sup>+</sup>-АТФази паріетальних клітин шлункових залоз та епітеліальних клітин товстої кишки, зміни процесів ліпопероксидації мають односпрямований характер при дії лансопразолу та його поєднаному впливі з проглюмідом та німесулідом.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
2. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева И.В. Простой и чувствительный метод определения активности СОД // Вопр. мед. химии. – 1990. – № 2. – С. 88-91.
3. Тимирбулатов Р.А., Селезнев Е.И. Метод повышения свободнорадикального окисления литийсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лаб. дело. – 1981. – № 4. – С. 209-211.
4. DuBose T.D., Codina J. H,K-ATPase // Curr. Opin. Nephrol. Hypertens. – 1996. – 5, № 5. – P. 411-416.
5. Green L.C., Wagner D.A., Glogowski J. et al. Tannenbaum. Analysis of nitrate, nitrite, and [<sup>15</sup>N] nitrate

in biological fluids // Anal. Biochem. – 1982. – 126. – P. 131-138.

6. Hirata T., Ukawa H., Yamakuni H. et al. Cyclooxygenase isozymes in mucosal ulcerogenic and functional responses following barrier disruption in rat stomachs // British J. Pharmacol. – 1997. – 122, № 3. – P. 447-454.

7. Hollander F., Choquet A., Blanc E.M. Involvement of phosphatidylinositol 3-kinase an mitogen-activated protein kinases in glycine-extended gastrin-induced dissociation and migration of gastric epithelial cells // J. Biol. Chem. – 2001. – 276. – P. 40402-40410.

8. Ichikawa H., Yoshida N., Takagi T. Lansoprazole ameliorates intestinal mucosal damage induced by ischemia-reperfusion in rats // World J. Gastroenterol. – 2004. – 10, № 19. – P. 2814-2817.

9. Ikuma M., Binder H.J., Geibel J. Role of apical

H-K-exchange and basolateral K channel in the regulation of intracellular pH in rat distal colon crypt cells // J. Membr. Biol. – 1998. – **1**, № 166. – P. 205-212.

10. Kuroda M., Yoshida N., Ichikawa H. et al. Lansoprazole, a proton pump inhibitor, reduces the severity of indomethacin-induced rat enteritis // Int J. Mol. Med. – 2006. – **17**, № 1. – P. 89-93.

11. Moutaery AL. A. Proglumide attenuates experimental colitis in rats // Toxicol. Pathol. – 2005. – **56**, № 4-5. – P. 327-332.

12. Nakamura M., Oda M., Akiba Y. et al. Autoradiographic demonstration of lansoprazole uptake sites in rat antrum and colon // J. Clin. Gastroenterol. – 1995. – **20**, Suppl 2. – S. 8-13

13. Omura N., Kashiwagi H., Aoki T. et al. Effects of enprostil on gastric endocrine secretion during chronic administration of lansoprazole // World J. Gastroenterol. – 1997. – **32**, № 6. – P. 740-746.

14. Orii S., Yamaguchi T., Anzai H., Chemoprevention for colorectal tumorigenesis associated with chronic colitis in mice via apoptosis. // J. Exp. Clin. Cancer Res. – 2003. – **22**, № 1. – P. 41-46.

15. Sangan P., Thevananther S., Sangan S. et al. Colonic H-K-ATPase alpha- and beta-subunits express ouabain-insensitive H-K-ATPase // Am. J. Physiol. Cell

Physiol. – 2000. – **278**, № 1. – C. 182-189.

16. Sachs G., Shin J.M., Briving C. et al. The pharmacology of the gastric acid pump: the H<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>ATPase // Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 1995. – **35**. – P. 277-305.

17. Schmidt H.H.W. Determination of nitrite and nitrate in culture media // Acta Biochemica. – 1995. – **2**. – P. 23-28.

18. Tsuji S., Sun WH., Tsujii M. et al. Lansoprazole induced mucosal protection through gastrin receptor-dependent-up-regulation of cyclooxygenase-2 in rats // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 2002. – **303**, № 3. – P. 1301-1308.

19. Viste A., Ovrebø K., Maartmann-Moe H., Waldum H. Lansoprazole promotes gastric carcinogenesis in rats with duodenogastric reflux // Gastric Cancer. – 2004. – **7**, № 1. – P. 31-35.

20. Watson SA., Morris TM., McWilliams D.F., et al. Potential role of endocrine gastrin in the colonic adenoma carcinoma sequence // Br. J. Cancer. – 2002. – **87**, № 5. – P. 567-573.

21. Yassin R.R. Signaling pathways mediating gastrin's growth-promoting effects // Peptides. – 1999. – **20**. – P. 885-898.

## ПРОЦЕССЫ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ И АКТИВНОСТЬ ЭНЗИМОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧКАХ ЖЕЛУДКА И ТОЛСТОЙ КИШКИ ПРИ СОВМЕСТНОМ ДЕЙСТВИИ ЛАНСОПРАЗОЛА С ПРОГЛУМИДОМ И НИМЕСУЛИДОМ У КРЫС

**В.Й. Кимакович, П.А. Скляр**

*Львовский национальный медицинский университет им. Данила Галицкого*

### Резюме

*В экспериментах на 32 белых крысах-самцах при действии лансопразола, лансопразола с проглумидом и лансопразола с нимесулидом показаны изменения процессов липопероксидации, активности энзимов антиоксидантной защиты (СОД, каталаза), содержания оксида азота в слизистых оболочках желудка и толстой кишки.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** Н<sup>+</sup>,К<sup>+</sup>-АТФаза, лансопразол, проглумид, нимесулид, процессы липопероксидации.

## LIPOPEROXIDATION PROCESSES AND ENZYMIC ANTIOXIDANT ACTIVITIES IN THE MUCOUS MEMBRANES OF STOMACH AND LARGE INTESTINE UNDER SIMULTANEOUS ACTION OF LANSOPRAZOLE WITH PROGLUMIDE AND NIMESULIDE IN RATS

**V.J. Kimakovych, P.O. Sklyarov**

*NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY LVIV*

### Summary

*The experiments were carried out on 32 white rats-males under the influence of lansoprasol, lansoprasol with proglumide and lansoprasol with nimesulide. Changes of lipoperoxidation processes, activity of antioxidant system enzymes (SOD, catalase), content of nitric oxide in the mucous membranes of stomach and large intestine were shown.*

**KEY WORDS:** Н<sup>+</sup>, К<sup>+</sup>-ATPase, lansoprasol, proglumide, nimesulide, lipoperoxidation processes.

**Адреса для листування:** В.Й. Кімакович, Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, вул. Пекарська, 69а, Львів, 79001, Україна.

## РОЛЬ ВІТАМІНІВ Е ТА С В АНТИОКСИДАНТНИХ ПРОЦЕСАХ ОРГАНІВ ТРАВНОЇ СИСТЕМИ

О.Я. Склярів, В.С. Журомський<sup>1</sup>

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО  
ЛЬВІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ КОЛЕДЖ ІМ. АНДРЕЯ КРУПІНСЬКОГО<sup>1</sup>

*У статті розглянуто роль вітамінів Е та С у механізмах антиоксидантного захисту клітин організму, в тому числі у слизових оболонках шлунка та тонкої кишки.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: вітаміни С, Е, антиоксидантна система, виразка шлунка.

Згідно з функціональною класифікацією, вітаміни Е, С та каротиноїди відносять до групи вітамінів антиоксидантів [4]. За останні роки значно розширено уявлення щодо антиоксидантних та неантиоксидантних механізмів впливу  $\alpha$ -токоферолу й аскорбінової кислоти на процеси функціонування клітин. Вітамін Е бере участь у регуляції процесів проліферації, апоптозу, впливає на продукцію активних форм кисню, реакції агрегації та адгезії, синтезу цитокінів [1]. Вітамін С як антиоксидант включає аскорбінову (відновлена форма) та гідроксиаскорбінову кислоти, як кофактор ферментів гідроксилаз та монооксигеназ бере участь у процесах біосинтезу колагену, карнітину, нейротрансмітерів, моделює процеси клітинної проліферації, індукує апоптоз, пригнічує ріст *Helicobacter pylori*, стимулює імунну систему, підвищуючи проліферацію імунних клітин, тощо [9, 12, 22, 29].

На сьогодні показані різносторонні ефекти участі вітамінів Е та С у механізмах стабілізації мембран клітин організму. Так, протективна та антиоксидантна дії вітамінів Е і С відзначено при нейро- та гепатотоксичних станах [13], впливі оксидативного стресу на клітини крові [7, 24], експериментальному діабеті [11], токсичному пошкодженні нирок [16]. Вітамін Е інгібує викликані оксидативним стресом у гепатоцитах печінки активність орнітиндекарбоксілази, процеси пероксидації ліпідів у мікросомах та генерацію гідроперексидів, при цьому активується глутатіонова система анти-

© О.Я. Склярів, В.С. Журомський, 2006.

оксидантного захисту [5]. Одночасне введення вітамінів Е та С проявляє захисний ефект відносно стінок судин [26].

Розвиток структурно-геморагічних пошкоджень шлунка супроводжується значним зростанням процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), зміною активності ферментів антиоксидантного захисту (СОД, каталази, ферментів глутатіонової системи), а також вмісту в слизовій оболонці шлунка (СОШ) вітамінів Е і С. Зростання концентрації супероксидного, гідроксильного, ONOO<sup>-</sup> радикалів та інших ініціює каскад ланцюгових реакцій, внаслідок чого відбувається руйнування поліненасичених жирних кислот мембран клітин з утворенням токсичних продуктів (МДА та ін.), що призводить до руйнування структури мембрани та порушення її функцій.

У функціонуванні антиоксидантної системи органів травлення суттєве значення мають вітаміни Е і С. При виразкових пошкодженнях СОШ загальний вміст аскорбінової кислоти та її відновленої форми, вітаміну Е та слизу зменшується, тоді як вміст окисненої форми аскорбінової кислоти майже не змінюється [17, 20]. На фоні ульцерогенних пошкоджень слизової оболонки дванадцятипалої кишки, викликаних цистиаміном, знижується вміст відновленого глутатіону, тоді як концентрація аскорбінової кислоти суттєво не змінюється [6].

У попередніх дослідженнях показано, що вітамін Е у вигляді токоферолу ацетату (при введенні в дозі 100 мг/кг на добу протягом 10 днів внутрішньошлунково) у щурів з експери-

ментальною виразкою призводить до зменшення вмісту малонового діальдегіду (МДА) у СОШ та проміжному мозку. Автори пояснювали зниження процесів ліпопероксидації при введенні токоферолу участю його у нормалізації ліпідних компонентів клітинних мембран, запобіганні структурно-функціональним порушенням у мембранах мітохондрій [2].

На фоні ulcerогенних пошкоджень СОШ аспірином введення вітаміну Е (в дозах 60, 100, 150 мг/кг маси тіла) призводить до значного зниження вмісту МДА та секреції кислоти. При цьому вітамін Е не впливає на виділення слизу. За цих умов вітамін Е зменшує виразковий індекс [15]. Вітамін Е значно знижує вміст простагландинів у СОШ [23].

У хом'яків, інфікованих *Helicobacter pylori*, вітамін Е знижує вміст продуктів тіобарбітурової кислоти, а вітамін С за цих умов послаблює оксидативне пошкодження ДНК та зменшує процеси запалення в СОШ [27].

Регуляторна антиоксидантна дія вітаміну Е також пов'язана з його впливом на активність ензимів антиоксидантного захисту. Введення вітаміну Е (в дозах 100, 300, 600 мг/кг) призводить до зростання активності супероксиддисмутази еритроцитів та підвищення загальної антиоксидантної активності крові [14].

Відносно ролі аскорбінової кислоти у механізмах шлункової цитопротекції слід відзначити, що вміст вітаміну С у шлунковому секреті є значно вищим, ніж у плазмі крові. При гострих запальних процесах, викликаних *Helicobacter pylori*, вміст вітаміну С у шлунковому соку різко знижується. Також відзначено, що у шлунковому соку хворих із хронічним гастритом з метаплазією слизової оболонки за кишковим типом вміст вітаміну С значно менший, ніж у пацієнтів із хронічним гастритом без метаплазії слизової оболонки [3, 8, 10, 21]. Аскорбінова кислота інгібує синтез простагландину  $E_2$  у СОШ, але не експресію ЦОК-2 у тварин, інфікованих *Helicobacter pylori* [12].

Вітамін С в експериментах на тваринах на клітинних культурах проявляє антиканцерогенну дію [3].

Пероральне введення аскорбінової кислоти (в дозах 10, 50, 100 мг/кг) на фоні ulcerогенного пошкодження СОШ має протективний ефект на ступінь морфологічних пошкоджень слизової оболонки та вміст аскорбінової кислоти і вітаміну Е [17].

Однак в інших дослідженнях показано, що введення аскорбінової кислоти (в дозах 50, 100, 200 мг/кг) протягом 7 днів не викликає цитопротекторної дії на ulcerогенні процеси слизової оболонки дванадцятипалої кишки. Тоді як концентрація глутатіону та аскорбінової кислоти в гомогенатах слизової оболонки зростає [6].

Аскорбінова кислота проявляла антиоксидантний ефект, зв'язуючи кисневі радикали, запобігаючи відновленню глутатіону та зменшуючи реакції пероксидації при пошкодженнях тонкої кишки щурів (на моделі методики ішемії та реперфузії) [19]. Антиоксидантна роль аскорбінової кислоти пов'язана із зв'язуванням  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH^-$ , сиглентного кисню,  $HOCl$ ,  $ONOO^-$ . Введення аскорбінової кислоти попереджує інфільтрацію нейтрофілів у СОШ та зростання концентрації цитокінів [25, 28].

Вітамін С застосовують у практичній гастроентерології при лікуванні хворих з *Helicobacter pylori* інфекцією. Так, використання комплексу "ацетилсаліцилова кислота+вітамін С" покращує захисні процеси у СОШ та зменшує мікрокровотечі, наслідки оксидативного стресу і рівень прозапальних цитокінів [18].

Отже, незважаючи на розкриття ролі вітамінів С та Е в основних ланках механізму антиоксидантного захисту клітин, залишається ряд питань, пов'язаних з їх кооперативною участю у механізмах антиоксидантного захисту з ферментами антиоксидантного захисту (СОД, каталаза, глутатіонова система), підбором оптимальних доз, проявом їх ефекту одночасно з дією блокторів шлункової секреції.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Капралов О.О., Донченко Г.В., Петрова Г.В. Роль вітаміну Е у процесах функціонування клітини. Антиоксидантні та неантиоксидантні механізми // Укр. біохім. журн. – 2002. – **74**. – № 4а (додаток 1). – С. 43.

2. Попова С.П. Вплив токоферолу на вільнорадикальні реакції організму щурів при експериментальному виразковому процесі в гастродуоденальній ділянці // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. – 2002. – **4**, № 20. – С. 66-70.

3. Склярів О.Я., Косий Є.Р., Склярів Є.Я. Фізіологічні та клінічні основи гастроентерології. – Львів, 1997. – 348 с.
4. Спиричев В.Б. Теоретические и практические аспекты современной витаминологии // Укр. біохім. журн. – 2004. – **76**, № 4. – С. 32-53.
5. Agarwal M.K., Iqbal M., Athar M. Vitamin E inhibits hepatic oxidative stress, toxicity and hyperproliferation in rats treated with the renal carcinogen ferric nitrilotriacetate // *Redox Rep.* – 2005. – **10**, № 2. – P. 62-70.
6. Ali B.H., Abdel Gayoum A.A., Bashir A.A., el-Fakhri M. Glutathione and ascorbic acid concentrations in the duodenum of rats with cysteamine-induced ulcers: influence of cysteine and ascorbic acid pretreatments // *Pharmacology.* – 1990. – **40**, № 5. – P. 258-264.
7. Armutcu F., Coskun O., Gurel A., et al. Altinyazar C. Vitamin E protects against acetone-induced oxidative stress in rat red blood cells // *Cell Biol. Toxicol.* – 2005. – **21**, № 1. – P. 53-60.
8. Banerjee S., Hawksby C., Miller S., et al. Effect of *Helicobacter pylori* and its eradication on gastric juice ascorbic acid // *Gut.* – 1994. – **37**. – P. 317-322.
9. Brigelius-Flohe R., Flohe L. Ascorbic acid, cell proliferation, and cell differentiation in culture // *Subcell Biochem.* – 1996. – **25**. – P. 83-107.
10. Fraser A.G., Woollard G.A. Gastric juice ascorbic acid is related to *Helicobacter pylori* infection but not ethnicity // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 1999. – **14**. – P. 1070-1073.
11. Garg M.C., Chaudhary D.P., Bansal D.D. Effect of vitamin E supplementation on diabetes induced oxidative stress in experimental diabetes in rats // *Indian J. Exp. Biol.* – 2005. – **43**, № 2. – P. 177-180.
12. Geoff V. Smith, Michael J.G. Farthing. The effect of ascorbic acid on *Helicobacter pylori* induced cyclooxygenase 2 expression and prostaglandin E<sub>2</sub> production by gastric epithelial cells in vitro // *Helicobacter.* – 2005. – **10**, № 1. – P. 83-89.
13. Gokalp O., Gulle K., Sulak O. The effects of methidathion on liver: role of vitamins E and C // *Toxicol Ind Health.* – 2003. – **19**, № 2-6. – P. 63-67.
14. Golestani A., Rastegar R., Sharifabrizi A., et al. Paradoxical dose- and time-dependent regulation of superoxide dismutase and antioxidant capacity by vitamin E in rat // *Clin. Chim. Acta.* – 2006. – **365**, № 1-2. – P. 153-159.
15. Jaarin K., Gapor M.T., Nafeeza M.I., Fauzee A.M. Effect of various doses of palm vitamin E and tocopherol on aspirin-induced gastric lesions in rats // *Int. J. Exp. Pathol.* – 2002. – **83**, № 6. – P. 295-302.
16. Kadkhodaei M., Khastar H., Faghihi M. Effects of co-supplementation of vitamins E and C on gentamicin-induced nephrotoxicity in rat // *Exp. Physiol.* – 2005. – **90**, № 4. – P. 571-576.
17. Kamiya Y., Ohta Y., Imai Y. et al. A critical role of gastric mucosal ascorbic acid in the progression of acute gastric mucosal lesions induced by compound 48/80 in rats // *World J. Gastroenterol.* – 2005. – **11**, № 9. – P. 1324-1332.
18. Konturek P.C., Kania J., Gesner U. et al. Effect of vitamin C-releasing acetylsalicylic acid on gastric mucosal damage before and after *Helicobacter pylori* eradication therapy // *Eur. J. Pharmacol.* – 2004. – **506**, № 2. – P. 169-177.
19. Nakamura M., Ozaki M., Fuchinoue S. et al. Ascorbic acid prevents ischemia-reperfusion injury in the rat small intestine // *Transpl. Int.* – 1997. – **10**, № 2. – P. 89-95.
20. Ohta Y., Kamiya Y., Imai Y., et al. A change in gastric mucosal ascorbic acid status with the formation, progression, and recovery of compound 48/80-induced acute gastric mucosal lesions in rats // *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo).* – 2004. – **50**, № 5. – P. 371-376.
21. Rood J.C., Ruiz B., Fontham E.T. et al. *Helicobacter pylori*-associated gastritis and the ascorbic acid concentration in gastric juice // *Nutr. Cancer.* – 1994. – **22**. – P. 65-72.
22. Sakagami H., Satoh K. Modulating factors of radical intensity and cytotoxic activity of ascorbate (review) // *Anticancer Res.* – 1997. – **17**. – P. 3513-3520.
23. Stickel F., Meydani M., Wu D. et al. Effect of vitamin E supplementation on prostaglandin concentrations in aspirin-induced acute gastric injury in aged rats // *Am. J. Clin. Nutr.* – 1997. – **66**, № 5. – P. 1218-1223.
24. Wang Q.Z., Ma A.G., Xue M.L., et al. Study on influence of different dosage of vitamin E on peripheral blood cell activities in rats // *Wei Sheng Yan Jiu.* – 2005. – **34**, № 4. – P. 425-427.
25. Whiteman M., Halliwell B. Protection against peroxynitrite-dependent tyrosine nitration and a1-antiproteinase inactivation by ascorbic acid. A comparison with other biological antioxidants // *Free Radic. Biol. Med.* – 1996. – **25**. – P. 275-283.
26. Yavuz T., Delibas N., Yildirim B. Vascular wall damage in rats induced by methidathion and ameliorating effect of vitamins E and C // *Arch. Toxicol.* – 2004. – **7**, № 11. – P. 655-659.
27. Yi-Qian Sun, Ilze Girgensone, Per Leanderson et al. Effect of antioxidant vitamin supplements on *Helicobacter pylori*-induced gastritis in Mongolian Gerbils // *Helicobacter.* – 2005. – **10**, № 1. – P. 33-42.
28. Yoshio Kamiya, Yoshiji Ohta, Yoichiro Imai et al. A critical role of gastric mucosal ascorbic acid in the progression of acute gastric mucosal lesions induced by compound 48/80 in rats // *R. World J. Gastroenterol.* – 2005. – **11**, № 9. – P. 1324-1332.
29. Zun Wu Zhang, Michael JG Farthing. The roles of vitamin C in *Helicobacter pylori* associated gastric carcinogenesis // *Chinese Journal of Digestive Diseases.* – 2005. – **6**. – P. 53-58.

## РОЛЬ ВИТАМИНОВ E И C В АНТИОКСИДАНТНЫХ ПРОЦЕССАХ ОРГАНОВ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

**А.Я. Скляр, В.С. Журомский<sup>1</sup>**

*ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО  
ЛЬВОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ КОЛЕДЖ ИМ. АНДРЕЯ КРУПИНСКОГО<sup>1</sup>*

### **Резюме**

*В статье рассмотрено роль витаминов E и C в механизмах антиоксидантной защиты клеток организма, в том числе слизистых оболочек желудка и тонкой кишки.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: витамины C, E, антиоксидантная система, язва желудка.**

## THE ROLE OF VITAMINS E AND C ON ANTIOXIDANT PROCESSES OF DIGESTIVE SYSTEM ORGANS

**O.Ya. Sklyarov, V.S. Zhuromsky<sup>1</sup>**

*LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY DANYILO HALYTSKY  
LVIV STATE MEDICAL COLLEGE BY ANDREY KRUPYNSKY<sup>1</sup>*

### **Summary**

*The role of vitamins E and C in mechanisms of antioxidant protection of organism cells, including, gastric and jejunum mucosa has been reviewed.*

**KEY WORDS: vitamins C, E, antioxidant system, gastric ulcer.**

**Адреса для листування:** О.Я. Скляр, Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, вул. Пекарська, 69а, Львів, 79001, Україна.

## ВМІСТ ТА ГЛІКОЗИЛЬОВАНІСТЬ $\alpha$ -КИСЛОГО ГЛІКОПРОТЕЇНУ ПРИ ГОСТРИХ, ХРОНІЧНИХ ВІРУСНИХ ГЕПАТИТАХ ТА ОНКОЗАХВОРЮВАННЯХ

**Н.І. Стекленьова, О.З. Бразалук, К.Ю. Литвин, М.С. Суремченко, А.І. Шевцова**  
ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

*Нами проведено дослідження вмісту  $\alpha$ -кислого глікопротеїну (АГП) в сироватці крові 85 хворих на гострі, хронічні вірусні гепатити та онкозахворювання. Виявлено достовірну різницю між рівнями АГП у пацієнтів з вірусним гепатитом А (ВГА) порівняно із здоровими особами. Також мало місце значне підвищення вмісту АГП при онкозахворюваннях, що призвело до механічної жовтяниці порівняно з контрольною групою, хворими на ВГА, вірусний гепатит В та хронічний вірусний гепатит. Відсутність глікоформи АГП, що сильно зв'язується з конканаваліном А, є специфічним показником пухлинного процесу.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:**  $\alpha$ -кислий глікопротеїн, глікозильованість, онкопатологія, вірусні гепатити.

**ВСТУП.** Найважливіша антиендотоксична роль в організмі людини належить білкам гострої фази запалення (БГФ), що синтезуються у печінці та виконують транспортно-елімінаційну і детоксикаційну функції [1]. Згідно із сучасними даними, розвиток патологічних станів, включаючи появу пухлин, супроводжується порушенням процесів глікозилювання протеїнів [2, 3]. Однією з найменш вивчених, але дуже важливих ділянок гострофазової відповідної реакції при вірусних гепатитах є  $\alpha$ -кислий глікопротеїн (орозомукоїд) – гострофазовий білок, що має широкий спектр біологічної активності. Він здатен стимулювати продукцію клітинами прозапальних цитокинів – ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, фактора некрозу пухлин- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ) та, разом із тим, має антипроліферативну, антиоксидантну активність та можливість гальмувати активацію комплементу за альтернативним шляхом [6]. Така різноманітність біологічних ефектів пов'язана з тим, що деякі з них забезпечуються білковою частиною молекули (зв'язування вільних радикалів, гальмування системи комплементу), тоді як інші види активності (головним чином імуномодулюючі ефекти) залежать від вуглеводної частини молекули [5]. Біохімічним аспектам синдрому цитолізу гепатоцитів при вірусних гепатитах присвячено багато досліджень, але даних про роль АГП при цьому захворюванні дуже мало і вони є суперечливими.

Метою нашої роботи було визначення діагностичної можливості АГП та його гліко-

© Н.І. Стекленьова, О.З. Бразалук, К.Ю. Литвин, М.С. Суремченко, А.І. Шевцова, 2006.

зилюваності при жовтяничних формах вірусних гепатитів та новоутвореннях, що призвели до механічних жовтяниць, для своєчасного виявлення онкологічних хворих, які помилково потрапляють до інфекційних відділень.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Концентрацію та глікозильованість АГП визначали у сироватці крові 85 хворих. Серед них 13 хворих на хронічні вірусні гепатити (ХВГ) та 72 хворих на гострі вірусні гепатити (ГВГ). Гострий вірусний гепатит А (ВГА) виявлено у 39 пацієнтів, гострий вірусний гепатит В (ВГВ) – у 30. Також нами обстежено 7 осіб з онкозахворюваннями, що призвели до механічної жовтяниці (пухлина правої частки печінки, рак головки підшлункової залози, рак воріт печінки, рак фатерового соска, гепатокарцинома). Обстеження хворих на гострі вірусні гепатити проводили в період розпалу захворювання. У всіх пацієнтів була відсутня супровідна патологія. Вік хворих складав від 16 до 68 років. У контрольну групу було включено 36 здорових осіб відповідного віку, які не мали в анамнезі захворювань печінки та гострозапальних явищ з боку інших органів на момент дослідження. Вміст АГП визначали методом ракетного електрофорезу в 1 % агарозному гелі, що містив моноспецифічну поліклональну антисироватку до цього глікопротеїну (рис. 1). Антисироватку до АГП отримували шляхом імунізації кролів внутрішньошкірно в декілька точок спини за такою схемою: по 20 мкг препарату в такому ж об'ємі повного ад'юванту Фрейнда тричі з інтервалом сім днів із наступною реімунізацією через кожні чотири

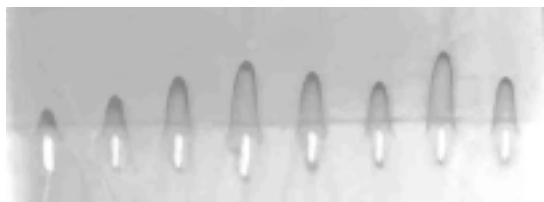


Рис. 1. Ракетний імуоелектрофорез. У лунки вносили по 5 мкл розведеної у 5 разів нормальної сироватки та розведеної у 7-12 разів сироватки хворих, вміст антисироватки – 23 мкл/см<sup>2</sup>, електрофорез протягом 18 год при напрузі 2 В/см. Лунки 1-4 – контрольний розчин із вмістом АГП 0,315; 0,5; 0,835; 1,17 мг у лунці, лунки 5-8 – сироватка хворих.

тижні. Кров відбирали з кінцевої вушної вени та центрифугували протягом 15 хв при 3000 об./хв. Одержану антисироватку консервували, додаючи азид натрію до кінцевої концентрації 0,1 %, і тестували на специфічність імуоелектрофорезом та імуоблотом. Для оцінки співвідношення глікоформ АГП проводили перехресний афінний імуоелектрофорез у 1 % агарозному гелі при наявності у першому напрямку лектину *Canavalia ensiformis* (ConA), у другому – антитіл до АГП (рис.2). Для всіх варіантів електрофорезу використовували трис-вероналовий буфер (рН=8,6).

Пластини зафарбовували 0,5 % розчином барвника Кумасі блакитного R-250. Кількісне визначення білка проводили за виміром площі преципітаційного піку. Статистичну обробку здійснювали за допомогою ліцензійної прикладної комп'ютерної програми "Statgraf" на ПК Intel Pentium III. Вірогідність відмінностей визначали за допомогою критерію Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Наведені у таблиці 1 результати свідчать про те, що вміст АГП достовірно збільшується ( $p < 0,001$ ) у хворих при гострому вірусному гепатиті різної етіології. Це може бути наслідком прямої цитопатогенної дії вірусу та некрозу печінкових клітин, головним чином через клітинну імунну відповідь [4]. Але необхідно зазначити, що при важкому перебізі гострого ВГВ з розвитком

Таблиця 1 – **Вміст АГП у сироватці крові хворих на жовтяницю**

| Патологія, що призвела до виникнення жовтяниці | Вміст АГП, г/л |
|--|----------------|
| Гострі вірусні гепатити                        |                |
| ВГА (n=39)                                     | 1,44±0,104***  |
| ВГВ (n=30)                                     | 1,104±0,102*** |
| Хронічні вірусні гепатити                      |                |
| ХВГ (n=13)                                     | 0,815±0,107*** |
| Онкозахворювання (n=7)                         | 2,5±0,416***   |
| Контрольна група (n=36)                        | 0,732±0,047    |

Примітка. \*\*\* – достовірна різниця порівняно з показниками контрольної групи ( $p < 0,001$ ).

Таблиця 2 – **Співвідношення фракцій АГП у сироватці крові онкохворих**

|                         | АГП-1, % | АГП-2, % | АГП-3, % |
|-------------------------|----------|----------|----------|
| Контрольна група (n=36) | 39,43    | 51,27    | 9,3      |
| Онкозахворювання (n=7)  | 61,73    | 37,53    | 0,74     |

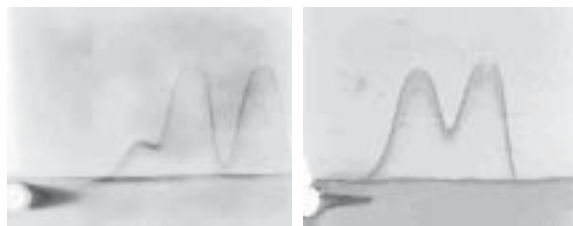


Рис. 2. Афінний імуоелектрофорез. У лунку вносили 10 мкл сироватки. Електрофорез у першому напрямку за наявності ConA (0,8 мг/мл) при напрузі 10 В/см протягом 60 хв, у другому – за наявності антисироватки (14 мкл/см<sup>2</sup>) при напрузі 2 В/см протягом 18 год. А – контрольна група, Б – онкозахворювання.

гострої печінкової недостатності вміст АГП знижувався більше ніж у 5 разів уже в ранній термін захворювання. Це достовірно відображає порушення білоксинтезувальної функції печінки та є несприятливим прогностичним показником. За нашими даними, при ХВГ рівень АГП був вищим, ніж у здорових осіб ( $p < 0,001$ ), та відображав активність запального процесу. При онкозахворюваннях, що призвели до механічної жовтяниці, рівень АГП достовірно збільшувався у 3,4 раза порівняно з нормою, в 1,7 раза порівняно з ВГА, у 2,3 раза порівняно з ВГВ та у 3 рази порівняно з ХВГ. Таким чином, цей показник може бути використаний з метою диференційної діагностики даних захворювань. Зміна співвідношення глікоформ АГП є більш чутливим та специфічним показником розвитку пухлинного процесу. За нашими даними, взаємодія АГП з ConA призводить до появи трьох піків, які характеризують ступінь спорідненості з лектином: фракція, що не зв'язується, – АГП-1, фракція, що слабо зв'язується, – АГП-2 і фракція, що сильно зв'язується, – АГП-3. У нормі на АГП-1 припадає 39,4 %, АГП-2 – 51,3 %, АГП-3 – 9,3 % (табл. 2). У групі хворих на механічну жовтяницю, що виникла в результаті онкогенезу, виявлено зниження кількості АГП-3 практично до повного зникнення й зміну співвідношення фракцій АГП-2 і АГП-1 у бік збільшення останньої.



ВИСНОВКИ. 1. Виявлено достовірне зростання ( $p < 0,001$ ) рівня АГП у сироватці крові хворих на гострі вірусні гепатити в період розпалу захворювання порівняно з контрольною групою.

2. Високий вміст АГП у сироватці крові хворих на механічну жовтяницю внаслідок

онкопатології порівняно з рівнем АГП у хворих на жовтяницю при вірусних гепатитах може бути диференційно-діагностичним критерієм цих захворювань.

3. Відсутність глікоформи АГП, що сильно зв'язується з ConA, є специфічним показником пухлинного процесу.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Волчкова Е.В., Пак С.Г., Малов В.А. и др. Динамика уровня белков острой фазы при вирусных поражениях печени // Терапевт. архив. – 2000. – № 11. – С. 18-21.

2. Галич И.П., Евтушенко Н.В. // Онкология. – 2003. – 5, № 1. – С.4-9.

3. Ивашкин В.Т., Маммаев С.М., Буеверов А.О. Взаимодействие вирусом гепатита В и С с клетками

иммунной системы макроорганизма // Лаб. диагностика. – 2001. – № 7. – С. 45-48.

4. Майер К.П. Гепатит и его последствия. – М.: ГЭОТАР Медицина, 1999. – 423 с.

5. Пухальский А.Л., Шмарина Г.В., Калашникова Е.А. // Бюл. экспер. биол. – 1998. – 125, № 1. – С. 79-83.

6. Boutten A., Dehoux M., Deschenes M. et al. // Eur. J. Immunol. – 1992. – № 22 – P. 2687-2695.

## СОДЕРЖАНИЕ И ГЛИКОЗИЛИРОВАННОСТЬ $\alpha$ -КИСЛОГО ГЛИКОПРОТЕИНА ПРИ ОСТРЫХ, ХРОНИЧЕСКИХ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТАХ И ОНКОЗАБОЛЕВАНИЯХ

**Н.И. Стекленева, А.З. Бразалук, Е.Ю. Литвин, Н.С. Суременко, А.И. Шевцова**  
ДНЕПРОПЕТРОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

#### Резюме

Нами проведено исследование содержания  $\alpha$ -кислого гликопротеина (АГП) в сыворотке крови 85 больных острыми, хроническими вирусными гепатитами и онкозаболеваниями. Выявлено достоверное отличие между уровнями АГП у пациентов с вирусным гепатитом А (ВГА) по сравнению со здоровыми людьми. Также имело место значительное повышение содержания АГП при онкозаболеваниях, что привело к механической желтухе по сравнению с контрольной группой, больными ВГА, вирусным гепатитом В и хроническим вирусным гепатитом. Отсутствие гликоформы АГП, сильно связывающейся с конканавалином А, является специфическим показателем опухолевого процесса.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:  $\alpha$ -кислый гликопротеин, гликозилированность, онкопатология, вирусные гепатиты.

## CONTENT AND GLYCOSYLATION OF $\alpha$ -1-ACID GLYCOPROTEIN IN ACUTE, CHRONIC VIRAL HEPATITIS AND ONCOPATHOLOGY

**N.I. Stekleneva, O.Z. Brazaluk, K.Y. Lytvyn, M.S. Suremenko, A.I. Shevtsova**  
DNIPROPETROVSK STATE MEDICAL ACADEMY

#### Summary

85 patients with acute and chronic hepatitis and oncopathology were included into the research. During the study performance, the content of AGP in blood serum was measured. The difference between AGP content in serum of patients with viral hepatitis A (HAV) and healthy persons was revealed. The significant increase of AGP content was also detected in oncopathology, resulting to mechanical jaundice comparing with norm, HAV, HBV and chronic viral hepatitis. The absence of glycoform of AGP, highly binding to Concanavalin A is a specific marker of malignancy.

KEY WORDS:  $\alpha$ -acid glycoprotein, glycosylation, oncopathology, viral hepatites.

Адреса для листування: Н.І. Стеклєнова, ДДМА, вул. Дзержинського, 9, Дніпропетровськ, 49044, Україна.

## ВПЛИВ КАРНІТИНУ ХЛОРИДУ НА ПОКАЗНИКИ БІЛКОВОГО ОБМІНУ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ГОСТРОГО АЛКОГОЛЬНОГО ОТРУЄННЯ НА ТЛІ ІНТОКСИКАЦІЇ СОЛЯМИ КАДМІЮ ТА СВИНЦЮ

І.Я. Криницька, І.М. Кліщ, І.Р. Бекус

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

*Досліджено комплексний вплив етанолу, кадмію хлориду та свинцю ацетату на показники білкового обміну в щурів. Встановлено, що за дії вказаних ксенобіотиків спостерігається виражена гіпо- та диспротеїнемія. Введення карнітину хлориду викликало поліпшення показників білкового обміну в крові отруєних тварин.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: карнітину хлорид, корекція, важкі метали, етанол, білковий обмін.

ВСТУП. Враховуючи темпи зростання забруднення навколишнього середовища ксенобіотиками, стає актуальним вивчення комбінованої дії токсичних сполук на організм. До основних забруднювачів довкілля відносять важкі метали, зокрема кадмій та свинець [2, 3, 5, 12]. Кадмій належить до металів, яким притаманна висока здатність акумулюватися в тканинах, особливо в печінці, нирках і кістках [10]. Відомо, що іони кадмію здатні реагувати з функціональними групами білкових молекул, зокрема сульфгідрильними, викликаючи окиснювальний стрес і пригнічуючи ряд біокаталітичних процесів [10]. Не менш небезпечним, з огляду на токсичну дію на організм, є свинець, що також є тіловою отрутою [3, 17] і посідає одне з основних місць серед причин хронічних отруєнь важкими металами [1, 5, 17, 18].

Аналіз даних літератури виявив, що більшість досліджень традиційно проводили у напрямку вивчення токсичних впливів свинцю та кадмію в дозах, які є найбільш небезпечними для життя [1, 3, 7, 8], але на сучасному етапі глобальний характер антропогенного забруднення важкими металами диктує необхідність вивчення токсичних ефектів кадмію та свинцю при дії на рівні малої інтенсивності, тобто таких доз і концентрацій, які в реальних умовах постійно впливають на населення [14, 15, 16, 18].

Поряд із цим в останнє десятиліття спостерігається значне зростання розповсюдженості алкоголізму. За даними ВООЗ, алкоголізм як причина смерті займає у світі за частотою третє місце, поступаючись тільки

© І.Я. Криницька, І.М. Кліщ, І.Р. Бекус, 2006.

злюкисним новоутворенням і захворюванням серцево-судинної системи [4, 11], а травми й отруєння, пов'язані з алкоголізмом, займають перше місце в структурі смертності працездатного населення.

Дані про поєднаний вплив гепатотоксичних агентів на показники білкового обміну нечисленні й часто суперечливі, а повідомлень про стан цих процесів за умов ураження етиловим спиртом на тлі хронічної інтоксикації кадмієм та свинцем у доступній нам літературі ми взагалі не зустрічали. Усе ще залишається складною і далекою до задовільного розв'язання проблема корекції біохімічних змін, викликаних дією ксенобіотиків.

Зважаючи на це, метою нашого дослідження було вивчити вплив карнітину хлориду на показники білкового обміну у тварин з гострим алкогольним отруєнням на тлі інтоксикації солями кадмію та свинцю.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на білих статевозрілих щурах-самцях масою 180-200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію.

Хронічне токсичне ураження викликали шляхом внутрішньошлункового введення тваринам водного розчину кадмію хлориду в дозі 3,3 мг/кг маси тіла ( $0,05 LD_{50}$ ) та свинцю ацетату в дозі 11 мг/кг ( $0,05 LD_{50}$ ) протягом 30-ти днів.

Гостре алкогольне отруєння моделювали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення етанолу, який попередньо розводили в 0,9 % розчині натрію хлориду, з

розрахунку 12,5 мл 40 % розчину етанолу на 1 кг маси [19] на 31-й день експерименту. Інтактним тваринам вводили відповідну кількість 0,9 % розчину натрію хлориду [9].

З метою корекції викликаних порушень внутрішньоочеревинно вводили фармакопейний 20 % розчин карнітину хлориду, попередньо розведений у 10 разів ізотонічним розчином натрію хлориду, щодоби в дозі 50 мг/кг у всі дні проведення експерименту [13].

Піддослідних щурів поділили на 3 групи: 1-ша – інтактні; 2-га – уражені етанолом на тлі інтоксикації солями кадмію та свинцю; 3-тя – уражені тварини, яким проводили корекцію карнітину хлоридом. Тварин декапітували під легким ефірним наркозом на 3, 5, 7-му доби від моменту припинення ураження згідно з правилами Європейської конвенції про гуманне ставлення до лабораторних тварин [20]. Дослідженню підлягали плазма та сироватка крові.

Стан білкового обміну оцінювали за концентрацією загального білка плазми крові, його фракціями та вмістом сечовини, які визначали згідно із загальноприйнятими методиками [6].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з визначенням t-критерію Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Дослідження деяких показників білкового обміну у тварин показали, що введення етанолу на тлі інтоксикації солями кадмію та свинцю призводить до певних змін. Результати проведених нами досліджень наведено в таблиці 1.

Встановлено, що поєднана дія вказаних ксенобіотиків викликає виражене зменшення концентрації загального білка плазми крові (на 47 % на 7-му добу експерименту відносно інтактних тварин).

Крім того, гіпопротеїнемія в уражених щурів супроводжувалася значною диспротеїнемією. Вміст альбуміну достовірно знижувався протягом усіх днів експерименту, причому максимальні зміни спостерігалися на 7-му добу (65 % від рівня інтактних тварин).

Оскільки печінка є основним місцем синтезу багатьох сироваткових білків, то, природно, при її токсичному ураженні функціональна здатність органа знижується. Більшість авторів розглядає гіпопротеїнемію та гіпоальбумінемію при токсичних ураженнях як наслідок пригнічення білковосинтезувальної функції печінки. Деякі автори пояснюють гіпопротеїнемію не лише пригніченням білковосинтезувальної функції печінки, але й підвищенням проникності судинної стінки і трансудацією альбумінів з кров'яного русла.

Порушення в білковому обміні проявилися не тільки змінами вмісту загального білка та альбумінів крові, але і при визначенні окремих фракцій глобулінів. Концентрація  $\alpha_1$ - та  $\alpha_2$ -глобулінів також лінійно зменшувалась протягом усіх днів експерименту – в 1,5 і 1,8 раза відповідно. Беручи до уваги, що 75-90 %  $\alpha_1$ - та  $\alpha_2$ -глобулінів синтезуються в печінці, то зниження їх вмісту можна пояснити пригніченням білковосинтезувальної функції печінки.

Щодо  $\beta$ - та  $\gamma$ -глобулінів, то їх вміст достовірно підвищувався (в 1,4 і 1,6 раза відповідно) на 3-ту добу експерименту і незначно змен-

Таблиця 1 – Вплив карнітину хлориду на показники білкового обміну за умов гострого алкогольного отруєння на тлі інтоксикації солями кадмію та свинцю ( $M \pm m$ )

| Показники                | Біологічна рідина | Інтактні, n=6 | Уражені етанолом на тлі інтоксикації солями кадмію та свинцю, n=18 |            |            | Уражені тварини, кориговані карнітину хлоридом, n=18 |           |           |
|--------------------------|-------------------|---------------|--|------------|------------|--|-----------|-----------|
|                          |                   |               | 3 доба   | 5 доба     | 7 доба     | 3 доба   | 5 доба    | 7 доба    |
| Загальний білок, г/л     | Плазма крові      | 73,2±3,1      | 42,6±3,4*  | 41,5±4,6*  | 39,1±2,4*  | 59,3±2,8#  | 60,7±3,2# | 62,3±4,2# |
| Альбуміни, %             | Плазма крові      | 52,6±4,5      | 37,4±4,1*  | 36,7±3,5*  | 34,2±2,8*  | 45,6±2,5   | 47,8±2,1# | 48,4±3,2# |
| $\alpha_1$ -глобуліни, % | Плазма крові      | 5,9±0,4       | 4,0±0,3*   | 3,93±0,28* | 3,81±0,35* | 4,9±0,2#   | 5,1±0,4#  | 5,5±0,7#  |
| $\alpha_2$ -глобуліни, % | Плазма крові      | 9,1±1,2       | 5,9±0,4  | 5,3±0,3*   | 4,9±0,2*   | 7,3±0,5#   | 7,8±0,9#  | 8,1±0,5#  |
| $\beta$ -глобуліни, %    | Плазма крові      | 13,4±1,1      | 19,5±1,3*  | 18,9±0,9*  | 18,2±1,2*  | 16,3±0,7#  | 15,5±1,1# | 15,2±0,8  |
| $\gamma$ -глобуліни, %   | Плазма крові      | 18,5±2,8      | 30,1±2,4*  | 28,3±2,1*  | 27,5±1,8*  | 23,5±1,2#  | 21,2±1,5# | 20,4±1,3# |
| Сечовина, ммоль/л        | Плазма крові      | 5,9± 0,3      | 3,3±0,2*   | 3,2±0,4*   | 2,7±0,3*   | 3,8±0,1#   | 4,5±0,2#  | 5,1±0,4#  |

Примітка. \* – різниця достовірна відносно інтактних тварин ( $p < 0,05$ ); # – різниця достовірна відносно уражених тварин ( $p < 0,05$ ).

шувався на 5-ту та 7-му доби. Зростання концентрації  $\beta$ - та  $\gamma$ -глобулінів, імовірно, слід розглядати як результат загальної реакції ретикуло-ендотеліальної системи на дію токсичних факторів, а їх деяке зниження, мабуть, зумовлене меншою ірритацією у зв'язку з припиненням отруєння.

Токсичне ураження печінки супроводжується порушенням не тільки процесів синтезу білка і його окремих фракцій, але й обміну амінокислот. Найчастіше зустрічаються порушення процесів їх дезамінування і трансамінування, пов'язані зі змінами активності відповідних ферментних систем. До порушень дезамінування амінокислот приєднується зниження синтезу сечовини. Результатом цього буде зменшення концентрації сечовини в плазмі крові, що підтверджується і нашими дослідженнями: концентрація сечовини в плазмі крові зменшилася в 2 рази на 7-му добу експерименту.

З метою корекції виявлених порушень білкового обміну ми застосовували карнітину

хлорид. Після введення цього препарату ураженим щурам виявлено достовірне підвищення вмісту загального білка та альбуміну в усі терміни дослідження порівняно з нелікованими тваринами. Корекція запропонованим нами середником сприяла також нормалізації співвідношення між окремими фракціями глобулінів та підвищенню концентрації сечовини.

Отже, результати досліджень свідчать про те, що карнітину хлорид проявляє позитивний вплив на досліджувані показники білкового обміну, що дає підставу вважати можливим застосування такого засобу при токсичних ураженнях печінки.

**ВИСНОВКИ.** 1. Поєднана дія ксенобіотиків (етанолу, кадмію хлориду та свинцю ацетату) призводить до виражених порушень білкового обміну.

2. Корекція карнітину хлоридом підвищує функціональну здатність печінки за умови комбінованого токсичного ураження.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Беккельман И., Пфистер Э. Нейротоксические эффекты многолетней экспозиции свинцом // Мед. труда. – 2001. – № 5. – С. 22-25.
2. Білецька Е.М. Гігієнічна оцінка сумарного добового надходження важких металів до організму в умовах промислових міст // Довкілля та здоров'я. – 1999. – № 2 (9). – С. 2-6.
3. Божанова Т.П. Влияние свинца и других тяжёлых металлов на здоровье детей // Токсикол. вест. – 1995. – № 5. – С. 36-38.
4. Волошин П.В., Кутіков О.Є. Вплив на регіональні особливості розповсюдження алкогольної залежності національних та релігійних традицій буття народів України // Український вісник психоневрології. – 2000. – 8. – вип. 1. – С. 7-9.
5. Грищенко С.В., Гринь Н.В., Степанова М.Г. и др. Комплексная гигиеническая оценка суммарного суточного поступления тяжелых металлов в организм жителей экокризисного региона // Довкілля та здоров'я. – 2004. – № 2 (29). – С. 5-9.
6. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – М.: МЕДпресс – информ., 2004. – 911 с.
7. Краснюк Е.П., Отвага И.С. Клинические стадии интоксикации свинцом // Лік. справа. – 2002. – № 7. – С. 117-120.
8. Любченко П.Н., Кабанова Т.Г. Случай тяжелой свинцовой интоксикации у рабочего аккумуляторного завода // Мед. труда. – 2005. – № 2. – С. 37-40.
9. Марченко Н.В., Родонежская Е.В. Современные взгляды на проблему алкогольной болезни печени // Сучасна гастроентерологія. – 2004. – № 4 (18). – С. 5-11.
10. Нейко Є.М., Губський Ю.І., Ерстенюк Г.М. Інтоксикація кадмієм: токсикокінетика і механізм біоцидних ефектів (огляд літератури) // Журн. АМН України. – 2003. – № 2. – С. 250-261.
11. Нужный В.П., Харченко В.И., Акопян А.С. Избыточное потребление алкоголя в России – весомый фактор риска болезней системы кровообращения и высокой смертности населения (обзор) // Терапевт. архив. – 1998. – № 10. – С. 57-64.
12. Олихова С.В., Табачников М.М., Геворгян А.М. и др. Содержание кадмия, свинца и меди в организме жителей Ташкента и Ташкентской области // Гигиена и санитария. – 2000. – № 3. – С. 11-12.
13. Сидоряк Н.Г., Волгин Д.В. Влияние карнитина на перекисное окисление липидов и липидный состав сыворотки крови при гемической гипоксии // Укр. биохим. журн. – 1996. – 68, № 5. – С. 54-58.
14. Трахтенберг И.М., Тычинин В.А., Талакин Ю.Н. и др. К проблеме носительства тяжелых металлов // Журн. АМН України. – 1999. – 5, № 1. – С. 87-95.
15. Хижняк С.В., Клепка А.В., Кисіль О.О. та ін. Біологічні ефекти хронічної дії йонізуювальної радіації та йонів кадмію // Укр. радіол. журн. – 2003. – № 3. – С. 298-304.
16. Штабский Б.М. ОПДК свинца и проблемы малых доз в токсикологии ксенобіотиків (К поле-

мике “романтиков” и “рационалистов”) // Токсикол. вестник. – 1998. – № 2. – С. 23-31.

17. Andrzejewska A., Szyńska B., Stokowska W. Ultrastructural evaluation of the rat parotid gland after six-week-intoxication with lead acetate // Mater. Med. Pol. – 1994. – **16**, № 2. – P. 65-68.

18. Dubrowska-Bouta B., Struczynska L., Rafalowska U. Effect of acute and chronic lead exposure on the level of sulfhydryl groups in the brain // Acta Neurobiol. Exp. – 1996. – **64**, № 6. – P. 233-236.

19. Effect of chronic ethanol treatment on peroxisomal acyl-CoA oxidase activity and lipid peroxidation in rat liver and heart / L.F. Panchenko, S.V. Pirozhkov, S.V. Popova, V.D. Antonenkov // Experientia. – 1987. – **43**, № 5. – P. 580-581.

20. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe. Strasbourg. – 1986. – № 123. – 52 p.

## ВЛИЯНИЕ КАРНИТИНА ХЛОРИДА НА ПОКАЗАТЕЛИ БЕЛКОВОГО ОБМЕНА У КРЫС В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО АЛКОГОЛЬНОГО ОТРАВЛЕНИЯ НА ФОНЕ ИНТОКСИКАЦИИ СОЛЯМИ КАДМИЯ И СВИНЦА

И.Я. Криницкая, И.Н. Клищ, И.Р. Бекус

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

### Резюме

Исследовано комплексное влияние этанола, кадмия хлорида и свинца ацетата на показатели белкового обмена у крыс. Установлено, что в условиях действия указанных ксенобиотиков наблюдается выраженная гипо- и диспротеинемия. Введение карнитина хлорида вызывало улучшение показателей белкового обмена в крови отравленных животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: карнитин хлорид, коррекция, тяжелые металлы, этанол, белковый обмен.

## THE EFFECT OF CARNITINE CHLORIDE ACTION ON PROTEIN METABOLISM INDICES IN RATS WITH ACUTE ETHANOL ADMINISTRATION COMBINED WITH CADMIUM AND LEAD SALTS POISONING

I.Ya. Krynytska, I.M. Klishch, I.R. Bekus

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA.HORBACHEVSKY

### Summary

Combined administration of ethanol, cadmium chloride and lead acetate on the protein metabolism indices in rats has been studied. It was determined, that while the mentioned xenobiotics act the expressive hypo- and dysproteinemia was observed. Administration of carnitine chloride caused the improvement of protein metabolism indices in blood of poisoned animals.

KEY WORDS: carnitine chloride, correction, heavy metals, ethanol, protein metabolism.

Адреса для листування: І.Я. Криницька, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м.Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

## ОСОБЛИВОСТІ ПРОЯВІВ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ДО І ПІСЛЯ ПРОВЕДЕНОГО ЛІКУВАННЯ ХРОНІЧНОЇ СЕРЦЕВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

С.М. Андрейчин, М.І. Марущак

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

*Досліджено показники ендогенної інтоксикації у хворих на хронічну серцеву недостатність різних стадій із систолічною дисфункцією та після проведеного лікування серцевої недостатності. Встановлено, що рівень ендогенної інтоксикації має тенденцію до підвищення при прогресуванні хронічної серцевої недостатності. Призначення стандартної терапії хронічної серцевої недостатності із систолічною дисфункцією знижує прояви ендотоксикозу.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** хронічна серцева недостатність, ендогенна інтоксикація, молекули середньої маси.

ВСТУП. Серцево-судинні захворювання є надзвичайно важливою соціально-економічною проблемою, оскільки найчастіше стають причиною смертності дорослого населення. Особливої актуальності набуває хронічна серцева недостатність (ХСН), тому що очевидні глобальне постаріння населення і збільшення кількості осіб з даною патологією. Точних даних щодо захворюваності й поширеності ХСН у більшості країн немає. Проте, за результатами Фремінгемського дослідження, наявність ХСН підвищує ризик раптової смерті в 6-9 разів [5]. Згідно з результатами міжнародного багаточентрового дослідження MERIT-HF (1999), частота випадків смерті від прогресуючої серцевої недостатності збільшується з ризиком важкості ХСН: з 12 % при II ФК до 29 % при III ФК і до 56 % при IV ФК. Приблизно половина пацієнтів з діагностованою ХСН помирає протягом перших 4 років, а при тяжкій ХСН стільки ж хворих помирає протягом першого року з моменту встановлення діагнозу [4].

Тому актуальним залишається вивчення особливостей перебігу ХСН, а також розробка нових методів профілактики і лікування.

Ендогенна інтоксикація (ЕІ) є типовим системним динамічним патологічним процесом, який супроводжує основне захворювання [7, 8]. ЕІ може виникати в результаті поєднання декількох факторів: підвищене утворення продуктів тканинного розпаду з наступною резорбцією і накопичення в організмі вторинних метаболітів, порушення виведення і за-

тримки тканинних екскретів, порушення процесів елімінації з організму кінцевих продуктів, пригнічення активності систем природної детоксикації [3, 10].

Як правило, ЕІ супроводжує захворювання, які пов'язані з підвищеним розпадом тканин, посиленими процесами катаболізму, порушенням функції печінки та нирок, дисфункцією газообміну [2, 6]. Тому метою нашого дослідження було вивчити інтенсивність і особливості проявів ендогенної інтоксикації у хворих на ХСН із систолічною дисфункцією різних стадій на фоні ішемічної хвороби серця (ІХС) відповідно до статі та після проведеного лікування ІХС, що ускладнена серцевою недостатністю.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Обстежено 84 пацієнти, віком від 40 до 70 років, з ХСН із систолічною дисфункцією різних стадій (за класифікацією М.Д. Стражеска і В.Х. Василенка) на фоні ІХС, в яких не було важкої супровідної патології, що могла б спричинити зміни в кістковій тканині й вплинути на показники ЕІ. У 15 осіб (17,86 %) діагностовано ХСН 0 ст., у 24 (28,57 %) – ХСН I ст., у 33 (39,29 %) – ХСН II-A ст. і в 12 (7,05 %) – ХСН II-B ст. Відповідно до вказаних стадій ХСН, чоловіків і жінок було 8 і 7, 14 і 10, 23 і 10, 7 і 5. Контрольну групу склали 20 здорових осіб такого ж віку.

Всім хворим, крім загальноприйнятих клініко-лабораторних обстежень, проводили денситометрію, визначення концентрації молекул середньої маси за методикою, описаною

© С.М. Андрейчин, М.І. Марущак, 2006.

М.І. Габріеляном та співавт. (1984), і рівня ендогенної інтоксикації (PEI) за сорбційною здатністю мембран еритроцитів, за А.А. Тогайбаєвим [1, 9].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У всіх пацієнтів незалежно від статі й стадії хвороби спостерігалось статистично достовірне підвищення EI порівняно зі здоровими. Наведені в таблиці 1 дані свідчать про однотипні зміни показників EI в осіб чоловічої та жіночої статей. Встановлено, що EI на фоні ХСН характеризувався збільшенням рівня МСМ на досліджуваних хвилях 254 і 280 нм. При цьому прогресування ХСН зумовлювало вірогідне поглиблення токсемії – у чоловіків: МСМ<sub>254</sub> на 28,62 (0 ст.) – 79,00 % (II-Б ст.), МСМ<sub>280</sub>, відповідно, на 28,64-107,01 %, PEI на 64,23-135,81 %; у жінок: МСМ<sub>254</sub> на 24,00 (0 ст.) – 86,32 % (II-Б ст.), МСМ<sub>280</sub> на 23,99 – 102,05 %, PEI на 53,16-141,42 %.

Ретельний аналіз співвідношення МСМ<sub>254</sub> і МСМ<sub>280</sub> показав, що при ХСН I ст. у чоловіків та ХСН II-A і II-Б ст. в осіб обох статей воно нижче контрольної групи (P<0,05). Можна говорити про достовірність їх різниці при прогресуванні серцевої недостатності лише між показниками у хворих чоловіків на ХСН 0 і I ст. та у пацієнтів обох статей при ХСН 0 і II-Б ст. (табл. 1).

Базисна терапія ХСН із систолічною дисфункцією включала призначення інгібітора ангіотензинперетворювального ферменту, β-адреноблокатора та петльового діуретика. Лікування хворих було максимально стандартизованим.

Провівши аналіз отриманих даних, можна стверджувати, що базисна терапія ХСН із систолічною дисфункцією вірогідно зменшує прояви токсемії (табл. 2), але не ліквідує їх, оскільки всі отримані показники EI після проведеного лікування були ще вищими даних контрольної групи (P<0,05).

Так, концентрація МСМ<sub>254</sub> в сироватці крові хворих після базисного лікування зменшилася при ХСН 0 ст. на 7,64 %, ХСН I ст. – 9,29 %, ХСН II-A ст. – 14,60 % та ХСН II-Б ст. – 8,59 % порівняно з показниками EI до проведеної медикаментозної терапії (0,01<P<0,05). Рівень МСМ<sub>280</sub> теж достовірно знизився відносно даних до лікування: при ХСН 0 ст. – на 71,34 %, ХСН I ст. – 7,81 %, ХСН II-A ст. – 7,39 % та ХСН II-Б ст. – 8,28 %. PEI також вірогідно зменшився: при ХСН 0 ст. – на 18,09 %, ХСН I ст. – 12,25 %, ХСН II-A ст. – 8,33 % та ХСН II-Б ст. – 23,76 %.

Потрібно відмітити, що отримані показники EI після проведеного лікування статистично достовірно відрізнялись відповідно до стадії ХСН, тобто глибина ендотоксикозу була виразніша у хворих в міру збільшення стадії (табл. 2).

Так, концентрація МСМ<sub>254</sub> зростала в 1,2 раза при ХСН 0 ст., в 1,7 раза при ХСН II-Б ст., МСМ<sub>280</sub>, відповідно, в 1,1-1,9 раза, PEI в 1,4-2,1 раза порівняно зі здоровими особами.

Можна припустити, що комплекс базисної терапії, що призначається хворим на ХСН із систолічною дисфункцією, пригнічує утворення продуктів тканинного розпаду і накопичення їх в організмі, активує природні детоксикаційні

Таблиця 1 – Показники EI у хворих на ХСН різних стадій до лікування (M±m)

| Стадія ХСН              | МСМ <sub>254</sub> , ум. од. |                   | МСМ <sub>280</sub> , ум. од. |                   | МСМ <sub>254</sub> /МСМ <sub>280</sub> |                | PEI, %          |                 |
|-------------------------|------------------------------|-------------------|------------------------------|-------------------|--|----------------|-----------------|-----------------|
|                         | чоловіки                     | жінки             | чоловіки                     | жінки             | чоловіки                               | жінки          | чоловіки        | жінки           |
| ХСН 0 ст.<br>(n=15)     | 431,13±<br>17,24*            | 409,82±<br>9,92*  | 185,63±<br>5,06*             | 181,64±<br>7,67*  | 2,33±<br>0,07                          | 2,27±<br>0,05  | 44,95±<br>2,14* | 42,15±<br>1,10* |
| P <sub>1</sub>          | <0,05                        | <0,01             | <0,001                       | <0,01             | <0,05                                  | >0,05          | <0,05           | <0,001          |
| ХСН I ст.<br>(n=24)     | 479,54±<br>12,95*            | 493,6±<br>17,80*  | 226,38±<br>6,47*             | 229,8±<br>11,93*  | 2,09±<br>0,08*                         | 2,17±<br>0,05  | 53,00±<br>2,01* | 50,72±<br>1,34* |
| P <sub>2</sub>          | <0,001                       | <0,05             | <0,05                        | <0,05             | >0,05                                  | >0,05          | <0,05           | <0,05           |
| ХСН II-A ст.<br>(n=33)  | 527,65±<br>14,22*            | 558,5±<br>18,51*  | 259,52±<br>7,14*             | 283,33±<br>14,87* | 2,05±<br>0,05*                         | 2,07±<br>0,09* | 58,84±<br>1,54* | 58,17±<br>3,24* |
| P <sub>3</sub>          | <0,01                        | <0,05             | <0,001                       | <0,05             | >0,05                                  | >0,05          | <0,05           | <0,05           |
| ХСН II-Б ст.<br>(n=12)  | 600,00±<br>12,07*            | 615,40±<br>18,52* | 298,71±<br>3,94*             | 296,00±<br>14,73* | 1,96±<br>0,04*                         | 2,06±<br>0,04* | 64,54±<br>2,05* | 66,44±<br>1,91* |
| P <sub>4</sub>          | <0,001                       | <0,001            | <0,001                       | <0,001            | <0,01                                  | <0,001         | <0,001          | <0,001          |
| Здорові особи<br>(n=20) | 335,20±<br>4,23              | 330,30±<br>4,13   | 144,30±<br>2,02              | 146,50±<br>1,80   | 2,33±<br>0,03                          | 2,26±<br>0,04  | 27,37±<br>0,80  | 27,52±<br>0,87  |

- Примітки: 1. \* – достовірність різниці між показниками хворих і здорових людей (0,001<P<0,05).  
2. P<sub>1</sub> – достовірність різниці між показниками хворих на ХСН 0 і I ст.  
3. P<sub>2</sub> – достовірність різниці між показниками хворих на ХСН I і II-A ст.  
4. P<sub>3</sub> – достовірність різниці між показниками хворих на ХСН II-A і II-Б ст.  
5. P<sub>4</sub> – достовірність різниці між показниками хворих на ХСН 0 і II-Б ст.

Таблиця 2 – Порівняння EI у хворих на ХСН різних стадій до і після лікування (M±m)

| Стадія ХСН               | МСМ <sub>254</sub> , ум. од. |                |                          | МСМ <sub>280</sub> , ум. од. |                |                          | РЕІ, %                  |                |                         |
|--------------------------|------------------------------|----------------|--------------------------|------------------------------|----------------|--------------------------|-------------------------|----------------|-------------------------|
|                          | до лікування                 | P <sub>4</sub> | після лікування          | до лікування                 | P <sub>5</sub> | після лікування          | до лікування            | P <sub>6</sub> | після лікування         |
| ХСН 0 ст.                | n=15<br>430,54±<br>10,02*    | <0,01          | n=7<br>400,00±<br>3,77*  | n=15<br>179,91±<br>5,22*     | <0,05          | n=7<br>163,00±<br>5,81*  | n=15<br>43,94±<br>1,05* | <0,00<br>1     | n=7<br>37,21±<br>0,43*  |
| P <sub>1</sub>           | <0,05                        |                | <0,01                    | <0,05                        |                | <0,05                    | <0,05                   |                | <0,01                   |
| ХСН I ст.                | n=24<br>464,50±<br>10,50*    | <0,05          | n=16<br>425,00±<br>6,77* | n=24<br>200,00±<br>6,20*     | <0,05          | n=16<br>185,50±<br>2,28* | n=24<br>48,55±<br>1,27* | <0,01          | n=16<br>43,25±<br>0,54* |
| P <sub>2</sub>           | <0,01                        |                | <0,01                    | <0,05                        |                | <0,001                   | <0,05                   |                | <0,001                  |
| ХСН II-A ст.             | n=33<br>518,00±<br>11,26*    | <0,001         | n=15<br>452,00±<br>5,19* | n=33<br>232,50±<br>6,64*     | <0,05          | n=15<br>216,50±<br>3,35* | n=33<br>51,35±<br>1,48* | <0,05          | n=15<br>47,40±<br>0,70* |
| P <sub>3</sub>           | <0,001                       |                | <0,001                   | <0,01                        |                | <0,01                    | <0,001                  |                | <0,001                  |
| ХСН II-B ст.             | n=12<br>629,50±<br>11,83*    | <0,05          | n=9<br>579,70±<br>3,34   | n=12<br>297,00±<br>5,64*     | <0,05          | n=9<br>274,30±<br>2,59*  | n=12<br>69,9±<br>1,60*  | <0,05          | n=9<br>56,48±<br>0,37*  |
| Здорові особи (контроль) | n=20<br>332,80±<br>2,93      |                | n=20<br>332,80±<br>2,93  | n=20<br>145,40±<br>1,34      |                | n=20<br>145,40±<br>1,34  | n=20<br>27,44±<br>0,58  |                | n=20<br>27,44±<br>0,58  |

- Примітки: 1. \* – достовірність різниці між показниками хворих і здорових людей (0,001<P<0,05).  
 2. P<sub>1</sub> – достовірність різниці між показниками хворих на ХСН 0 і I ст.  
 3. P<sub>2</sub> – достовірність різниці між показниками хворих на ХСН I і II-A ст.  
 4. P<sub>3</sub> – достовірність різниці між показниками хворих на ХСН II-A і II-B ст.  
 5. P<sub>4</sub> – достовірність різниці між показниками МСМ<sub>254</sub> до і після лікування.  
 6. P<sub>5</sub> – достовірність різниці між показниками МСМ<sub>280</sub> до і після лікування.  
 7. P<sub>6</sub> – достовірність різниці між показниками РЕІ до і після лікування.

системи організму, чим зменшує прояви ендотоксикозу.

**ВИСНОВКИ.** 1. Перебіг ХСН тісно пов'язаний із ЕІ, що проявляється накопиченням МСМ у периферичній крові.

2. При прогресуванні ХСН рівень показників ЕІ підвищується в осіб як чоловічої, так і жіночої статі.

3. Призначення стандартної терапії ХСН із систолічною дисфункцією знижує прояви ендотоксикозу.

4. Досліджені показники ЕІ можуть служити додатковими маркерами стадій ХСН та ефективності медикаментозного лікування, а тому їх доцільно використовувати в клінічній практиці.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Андрейчин М.А., Бех М.Д., Дем'яненко В.В. Методи дослідження ендогенної інтоксикації організму: Методичні рекомендації. – Тернопіль, 1998. – 31 с.
2. Афанасьєва А.Н. Сравнительная оценка уровня эндогенной интоксикации у лиц разных возрастных групп // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 6. – С. 11-12.
3. Барабанов А.Л., Мельнова Н.И., Гапанович В.Н. Роль и возможности коррекции эндогенной интоксикации при экземе // Здоровоохранение. – 2005. – № 4. – С. 19-21.
4. Бесага Є. Місце карведилолу в терапії хронічної серцевої недостатності // Ліки України. – 2004. – № 11. – С. 107-108.
5. Гуревич М.А. Нарушения сердечного ритма

и их коррекция при хронической сердечной недостаточности // Рос. кардиол. журн. – 2005. – № 3 (53). – С. 5-10.

6. Карякина Е.В., Белова С.В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (обзор литературы) // Клини. лаб. диагностика. – 2004. – № 3. – С. 3-8.

7. Малахова М.Я. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме // Эфферентная терапия. – 2000. – № 4. – С. 3-14.

8. Прохоров Д.В., Притуло О.А. Молекулы средней массы – маркер эндогенной интоксикации у больных микробной экземой // Дерматовенерология, косметология, сексопатология. – 2001. – № 1(4). – С. 95-97.



9. Тогайбаев А.А., Кургузкин А.В., Рикун И.В.  
Способ диагностики эндогенной интоксикации // Лаб. дело. – 1988. – № 9. – С. 22-24.

10. Химкина Л.Н., Добротина Н.А., Копытова Т.В.  
Значение эндогенной интоксикации при хронических дерматозах. Методы коррекции // Вестник дерматологии и венерологии. – 2001. – № 5. – С. 40-43.

## ОСОБЕННОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ДО И ПОСЛЕ ПРОВЕДЕННОГО ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

**С.М. Андрейчин, М.И. Марущак**

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

### Резюме

*Исследовано показатели эндогенной интоксикации у больных с хронической сердечной недостаточностью с систолической дисфункцией и после проведенного лечения сердечной недостаточности. Установлено, что уровень эндогенной интоксикации имеет тенденцию к повышению в меру прогрессирования хронической сердечной недостаточности. Назначение стандартной терапии хронической сердечной недостаточности с систолической дисфункцией снижает проявления эндотоксикоза.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** хроническая сердечная недостаточность, эндогенная интоксикация, молекулы средней массы.

## TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY FEATURES OF ENDOGENIC INTOXICATION MANIFESTATIONS BEFORE AND AFTER THE TREATMENT OF CHRONIC HEART FAILURE

**S.M. Andreychyn, M.I. Marushchak**

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA.HORBACHEVSKY

### Summary

*Parameters of endogenic intoxication at patients with chronic heart failure with systolic dysfunction and after the treatment of heart failure have been investigated. It is established that the level of endogenic intoxication tends to increase in a measure of of chronic heart failure progressing. Prescription of standard therapy of chronic heart failure with systolic dysfunction reduces the sings of endotoxicosis.*

**KEY WORDS:** chronic heart failure, endogenic intoxication, molecules of medium mass.

**Адреса для листування:** М.І. Марущак, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м.Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

## ЕФЕКТ ПОЄДНАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ІНГІБІТОРА ІНДУЦИБЕЛЬНОЇ NO-СИНТАЗИ N-(3-АМІНОМЕТИЛ)БЕНЗИЛ)АЦЕТАМІДИНУ І СУБСТРАТУ СИНТАЗИ ОКСИДУ АЗОТУ L-АРГІНІНУ НА ГЕПАТОТОКСИЧНІСТЬ АЛІЛОВОГО СПИРТУ

Т.Я. Ярошенко

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

*У статті розглянуто одночасне пригнічення індуцибельної форми ферменту в гепатоцитах і стимуляції його конституційної форми в ендотеліальних клітинах капілярів та синусоїдів тканини печінки. Стверджено, що дана комбінація препаратів буде ефективною щодо корекції деструктивних змін у печінці при її ураженні аліловим спиртом.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** оксид азоту, аліловий спирт, інгібітор iNOS, L-аргінін, печінка.

**ВСТУП.** Оксид азоту (NO) – унікальна біологічна молекула, що синтезується в клітинах з L-аргінину і бере участь у численних фізіологічних і патологічних процесах, йому притаманний широкий діапазон біологічної активності [15]. Пригнічення індуцибельної NO-синтази (iNOS) має позитивний ефект при ендотоксемії та ішемії/реперфузії печінки [11]. Проте блокування продукції NO не завжди є корисним і результати інших досліджень показали, що інгібітори iNOS не впливають на гепатотоксичність кадмію [10] та ацетамінафену [12]. Крім того, інгібування iNOS може навіть послабити захисні механізми організму, так, як це продемонстровано при інтоксикації тетрахлорметаном [18]. У сучасній літературі також зустрічаються твердження, що донаторам NO притаманна сприятлива дія при токсичному ураженні печінки [9], проте негативні ефекти також мають місце [14]. Як бачимо, відповідні повідомлення, що зустрічаються в літературі, розрізнені й часто суперечливі.

Метою даної роботи було дослідити ефект комбінованого застосування інгібітора iNOS N-(3-амінометил)бензил)ацетамідину (1400W) та субстрату NO-синтази L-аргінину на гепатотоксичність алілового спирту (АС).

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Досліди проведено на білих щурах масою 180-200 г, яких утримували у звичайних умовах віварію. Піддослідних тварин було поділено на 3 групи: 1-ша – інтактні, 2-га – уражені АС, 3-тя – уражені АС + корекція (1400W + L-аргінін). АС вводили

© Т.Я. Ярошенко, 2006.

тваринам 2-ї і 3-ї груп у дозі 30 мг·кг<sup>-1</sup> маси щура внутрішньоочеревинно одноразово [13]. Інтактні тварини отримували ізотонічний розчин натрію хлориду в ідентичному об'ємі. 1400W вводили одноразово внутрішньоочеревинно за 30 хв до ін'єкції гепатотоксину в дозі 1,5 мг·кг<sup>-1</sup> і дворазово у тій же дозі [17]. L-аргінін вводили в дозі 0,2 мг·кг<sup>-1</sup> протягом 14 (2-га група тварин) і 17 днів (3-тя група) [7]. Дослідження проводили на 24, 72 год експерименту з моменту введення АС.

У гомогенатах печінки визначали вміст малонного діальдегіду (МДА) [1], відновленого глутатіону (SH-груп) [8], активність каталази (КАТ) [5], сукцинатдегідрогенази (СДГ) [2] та цитохромоксидази (ЦО) [6], рівень нітратів і нітритів (NO<sub>x</sub>) [16]. У плазмі крові – активність АлАТ та АсАТ (за допомогою стандартних наборів реактивів Lachema, Czech Republic), КАТ, церулоплазміну (ЦП) [3], стабільного метаболіту NO – NO<sub>2</sub>.

Результати досліджень піддавали статистичній обробці, використовуючи критерій t-Стьюдента, за допомогою комп'ютерної програми "Origin 6.0".

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Відомо, що АС викликає некроз гепатоцитів у щурів і мишей, після введення 30 мг·кг<sup>-1</sup> токсину максимальні некротичні зміни розвиваються через 18-24 год [4]. З огляду на те, що некротичне ураження печінки АС супроводжується пригніченням активності eNOS з одночасною активацією iNOS гепатоцитів, ми провели комбіноване використання селективного інгібітора

iNOS 1400W і субстрату NO-синтази L-аргініну. Як видно з представлених у таблиці 1 результатів, концентрація NO<sub>x</sub> у плазмі крові через 24 год після інтоксикації зросла у 2 рази і залишалася достовірно підвищеною протягом трьох днів. У печінці вміст нітритів і нітратів збільшився меншою мірою. Як стверджують [14, 18], при токсичному ураженні має місце гіперекспресія iNOS, яка в подальшому призводить до зростання рівня NO. Отруєння тварин АС зумовило достовірне підвищення активності маркерних ферментів некрозу гепатоцитів – АлАТ і АсАТ, через 24 год активність зросла в 9 і 8 разів порівняно зі здоровими щурами, а через 72 год спостерігалось її зниження. Очевидно, розпал токсичного гепатиту припадає на 1-шу добу експерименту.

Мала місце активація вільнорадикальних процесів на 1-шу добу експерименту, рівень МДА в плазмі отруєних тварин зріс у 3,2 раза, а в печінці – у 2,7 раза відносно інтактних. При цьому активність ліпопероксидних реакцій у печінці була достовірно підвищеною протягом трьох днів після інтоксикації, тоді як у плазмі крові на третій день показники концентрації МДА достовірно не відрізнялися від норми. Оскільки NO є радикалом, то його надмірна

продукція iNOS може призвести до активації вільнорадикальних реакцій. NO здатний негайно взаємодіяти із супероксиданіонрадикалом з утворенням пероксинітриду (ONOO<sup>-</sup>), що супроводжується генерацією каскаду високотоксичних окиснювальних середників (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>2</sub><sup>+</sup>, OH<sup>-</sup>).

Ураження печінки АС супроводжувалось глибокими порушеннями антиоксидантної системи: максимальну активність каталази в крові (142 %) зареєстровано на 1-шу добу експерименту, на 3-тю добу активність ферменту дещо знижувалась, але залишалась все ще достовірно вищою від рівня здорових тварин. У печінці дана активність зменшувалась більше ніж у 2 рази і зберігалась зниженою на 3-тю добу (на 25 %) від рівня інтактних щурів. Можливо, підвищення активності ферменту в крові є результатом його посиленого виходу в кров внаслідок цитолізу гепатоцитів під впливом АС. Через добу з моменту введення токсичну вміст ЦП становив 135 % від рівня здорових тварин. Протягом 72 год концентрація ферменту в крові практично не змінювалась.

Відомо, що продукт метаболізму АС акролеїн здатний окиснювати сульфгідрильні групи, приблизно 80-85 % усіх сульфгідрильних груп у тканинах організму представлені відновленим

Таблиця 1 – Показники функціонального стану печінки за умови поєданого застосування iNOS 1400W і субстрату NO-синтази L-аргініну при токсичному гепатиті (M+m; n=6-8)

| Показники                    |                   | Група тварин |             |                        |
|------------------------------|-------------------|--------------|-------------|------------------------|
|                              |                   | Інтактні     | Уражені АС  | АС + 1400W + L-аргінін |
| 1-ша доба після інтоксикації |                   |              |             |                        |
| АлАТ, ммоль/(л·год)          |                   | 0,46±0,02    | 4,16±0,28*  | 2,05±0,18**            |
| АсАТ, ммоль/(л·год)          |                   | 0,38±0,03    | 2,90±0,22*  | 1,10±0,09**            |
| NO <sub>x</sub>              | плазма, мкмоль/л  | 14,30±1,18   | 28,30±1,14* | 18,50±1,63**           |
|                              | печінка, мкмоль/г | 2,51±0,14    | 3,15±0,14*  | 2,44±0,12**/#          |
| МДА                          | плазма, мкмоль/л  | 7,60±0,91    | 24,10±1,85* | 11,10±0,70**           |
|                              | печінка, нмоль/г  | 2,50±0,20    | 6,85±0,50*  | 3,52±0,21**            |
| КАТ                          | плазма, мкат/л    | 0,21±0,008   | 0,30±0,007* | 0,26±0,02              |
|                              | печінка, мкат/мг  | 65,80±4,30   | 30,90±2,46* | 55,08±3,45**           |
| ЦП, г/л                      |                   | 0,28±0,009   | 0,38±0,01*  | 0,30±0,03**            |
| SH-групи                     | плазма, ммоль/л   | 2,95±0,09    | 1,35±0,10*  | 1,79±0,13**            |
|                              | печінка, кмоль/г  | 3,81±0,25    | 2,20±0,18*  | 3,45±0,18**            |
| СДГ, нмоль/(мг·хв)           |                   | 12,05±0,66   | 7,12±0,42*  | 10,30±0,84**           |
| ЦО, нмоль/(мг·хв)            |                   | 10,90±0,85   | 5,80±0,32*  | 8,25±0,65**            |
| 3-тя доба після інтоксикації |                   |              |             |                        |
| АлАТ, ммоль/(л·год)          |                   | 0,46±0,02    | 2,95±0,20*  | 1,35±0,09**            |
| АсАТ, ммоль/(л·год)          |                   | 0,38±0,03    | 1,02±0,09*  | 0,56±0,07**            |
| NO <sub>x</sub>              | плазма, мкмоль/л  | 14,30±1,18   | 20,50±1,06* | 18,40±1,13**           |
|                              | печінка, мкмоль/г | 2,51±0,14    | 2,86±0,20   | 2,59±0,17              |
| МДА                          | плазма, мкмоль/л  | 7,60±0,91    | 10,02±1,96  | 7,95±0,42              |
|                              | печінка, нмоль/г  | 2,50±0,20    | 3,50±0,22*  | 2,61±0,15**            |
| КАТ                          | плазма, мкат/л    | 0,21±0,008   | 0,28±0,003* | 0,22±0,02**            |
|                              | печінка, мкат/мг  | 65,80±4,30   | 50,73±3,25* | 62,70±5,34**           |
| ЦП, г/л                      |                   | 0,28±0,009   | 0,37±0,02*  | 0,30±0,03**            |
| SH-групи                     | плазма, ммоль/л   | 2,95±0,09    | 2,20±0,12*  | 2,65±0,14**            |
|                              | печінка, кмоль/г  | 3,81±0,25    | 3,18±0,10*  | 3,80±0,18**            |
| СДГ, нмоль/(мг·хв)           |                   | 12,05±0,66   | 10,58±0,87  | 12,40±1,24             |
| ЦО, нмоль/(мг·хв)            |                   | 10,90±0,85   | 8,95±0,52   | 10,14±0,95             |

Примітка. \* – зміни достовірні відносно відповідних показників групи інтактних тварин;

\*\* – зміни достовірні відносно показників тварин з гепатитом, яким не проводили корекцію.

глутатионом. Тому за змінами кількості загальних сульфгідрильних груп можна судити про зміни вмісту відновленого глутатіону в тканинах. Через 24 год від початку дослідів їх рівень знижувався в 2,2 раза в плазмі крові та в 1,7 раза у печінці. У подальшому вміст SH-груп в обох тканинах дещо зростав, проте на 3-тю добу експерименту все ще залишався достовірно меншим порівняно з інтактними тваринами. Активність СДГ і ЦО в мітохондріях печінки знижувалась в 1,7 і 2 рази, порівняно зі здоровими тваринами, на 1-шу добу, тоді як на 3-тю добу активність ферментів наближалася до норми і статистично достовірно не відрізнялася від такої здорових тварин. Осільки дані ферменти є мембранозв'язаними, за їх активністю можна побічно судити про ступінь деструкції мембран, а отже, і про вираження некрозу гепатоцитів.

Одноразове введення тваринам з гепатитом комбінації препаратів удвічі знижувало активність АлАТ у плазмі крові, тоді як активність іншого маркера цитолізу – АсАТ – підвищувалася після проведеної корекції в 2,6 раза. Через 24 год після застосування коригувальних препаратів вміст  $\text{NO}_x$  в плазмі крові отруєних щурів зменшувався в 1,5 раза, а в печінці – на 30 % ( $p < 0,05$  в обох випадках). Після інтоксикації в результаті проведеної корекції концентрація МДА в плазмі крові знижувалась у 2,2 раза, а в печінці – в 1,9 раза. На 3-тю добу експерименту вміст МДА в крові отруєних щурів уже достовірно не відрізнявся від такого в здорових тварин. У печінці комбінація засобів достовірно зменшувала в 1,3 раза вміст МДА порівняно з тваринами 2-ї групи. Можна стверджувати, що селективне інгібування іNOS з одночасним забезпеченням субстрату для функціонування NO-синтаз викликає пригнічення окиснювальних реакцій у гепатоцитах і крові.

Одноразове призначення 1400W і L-аргініну ураженим АС тваринам призвело до достовірного підвищення на 80 % активності КТ у печінці порівняно з щурами, яким препарати не вводили. На відміну від 1-ї доби дослідження, корекція препаратами протягом 2-х днів викликала статистично значущу нормалізацію каталазної активності як у крові (на 27 %), так і в печінці (на 18 %) порівняно з ураженими АС тваринами. Через 24 год з моменту інтоксикації

концентрація ЦП у крові щурів, яким вводили комбінацію засобів, була нижчою на 26 % від такої в некоригованих тварин, а через 72 год – на 23 %. Вміст відновленого глутатіону на 1-шу добу експерименту підвищувався достовірно на 32 % у плазмі крові щурів, яким вводили комбінацію 1400W + L-аргінін, тоді як у печінці – в 1,6 раза. На 3-тю добу дослідів концентрація відновленого глутатіону в плазмі крові тварин, яким вводили обидва засоби, зростала, порівняно з щурами, яким корекцію не проводили, на 20 %, а в печінці – на 19 %. Активність СДГ та ЦО підвищувалась в 1,4 раза в результаті поєднаного застосування препаратів.

Попередньо нами досліджено, що застосування високоселективного інгібітора іNOS 1400W позитивно впливає на перебіг патологічного процесу при гострому токсичному ураженні печінки АС [1]. Отже, можна припустити, що посилена експресія іNOS і відповідна гіперпродукція NO при токсичному ураженні печінки відіграють негативну роль. Тоді як введення тваринам з токсичним гепатитом речовин, які підвищують концентрацію NO в тканинах викликало позитивний ефект, хоча і не такий виражений, як при застосуванні інгібітора іNOS. Це, очевидно, свідчить про винятково важливу роль пригнічення активності еNOS в патогенезі токсичного ураження печінки АС. NO, що синтезується еNOS (зосереджена в основному в ендотелії капілярів), виконує захисну функцію, покращуючи мікроциркуляцію в паренхімі й, тим самим, мінімізуючи печінкове ураження.

**ВИСНОВКИ.** 1. Гостре токсичне ураження печінки, викликане введенням АС, супроводжується збільшенням загальної кількості утвореного у печінці NO, активацією процесів цитолізу та ліпопероксидації, що відбувається на фоні пригнічення системи антиоксидантного захисту гепатоцитів, порушенням функціонування мембранозв'язаних ферментів.

2. Селективне пригнічення індукцибельної форми синтази оксиду азоту за допомогою 1400W з одночасним застосуванням L-аргініну запобігає активації вільнорадикальних процесів, пригніченню системи антиоксидантного захисту, порушенню функціонування ферментів дихального ланцюга мітохондрій і деструкції гепатоцитів.

#### 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. Ещенко Н.Д., Вольский Т.Г. Методы биохимических исследований. – Л.: Изд-во Ленинград.

ун-та, 1982. – С. 210-212.

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

4. Корда М.М., Ярошенко Т.Я. Влияние ингибитора индукцибельной синтазы оксиду азота N-(3-(аминометил)бензил)ацетамидину на гепатотоксичность аліло-

вого спирту // Мед. хімія. – 2004. – № 6. – С. 114-117.

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

6. Кривченкова Р.С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий // В кн.: Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 47-49.

7. Anaya-Prado R., Toledo-Pereyra L.H., Guo R.F. et al. The attenuation of hemorrhage-induced liver injury by exogenous nitric oxide, L-arginine, and inhibition of inducible nitric oxide synthase // Invest. Surg. – 2003. – № 16 (5). – P. 247-261.

8. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups // Arch. of Bioch. and Biophys. – 1959. – 82. – P. 70-77.

9. Futter L.E., Swayeh O.A., Moore P.K. A comparison of the effect of nitroparacetamol and paracetamol on liver injury // Br. J. Pharmacol. – 2001. – № 132. – P. 10-12.

10. Harstad E.B., Klaassen C.D. iNOS-null mice are not resistant to cadmium chloride-induced hepatotoxicity // Toxicology. – 2002. – № 175. – P. 83-90.

11. Hierholzer C., Harbrecht B., Menezes J.M. et al. Essential role of induced nitric oxide in the initiation of the inflammatory response after hemorrhagic shock // J. Exp. Med. – 1998. – № 187. – P. 917-928.

12. Hinson J.A., Bucci T.J., Irwin L.K. Effect of inhibitors of nitric oxide synthase on acetaminophen-

induced hepatotoxicity in mice // Nitric Oxide. – 2002. – № 6. – P. 160-167.

13. Kita Y., Hirasawa Y., Maeda K. Spontaneous nitric oxide release for the potent pharmacological actions of FK409 // Eur. J. Pharmacol. – 1994. – 257 (1-2). – P. 123-130.

14. Liu J., Saavedra J.E., Lu T. et al. O2-vinyl 1-(pyrrolidin-1-yl)diazen-1-ium-1,2-diolate protection against d-galactosamine/endotoxin-induced hepatotoxicity in mice: genomic analysis using microarrays // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 2002. – № 300. – P. 18-25.

15. Moncada R.S., Palmer M.J., Higgs E.A. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology // Pharmacol. Rev. – 1991. – № 43. – P. 109-142.

16. Ridnour L., Sim J.E., Hayward M. et al. A spectrophotometric method for the direct detection and quantitation of nitric oxide, nitrite, and nitrate in cell culture media // Anal. Biochem. – 2000. – № 281. – P. 223-229.

17. Souza M., Lemos Paula, Oliveira R.B. Gastric damage and granulocyte infiltration induced by indomethacin in tumour necrosis factor receptor (TNF-R1) or inducible nitric oxide synthase (iNOS) deficient mice // Gut. – 2004. – № 53. – P. 791-796.

18. Tanaka N., Tanaka K., Nagashima Y. et al. Nitric oxide increases hepatic arterial blood flow in rats with carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury // Gastroenterology. – 1999. – № 117.

## ЭФФЕКТ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ИНГИБИТОРА ИНДУЦИБЕЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ N-(3-АМИНОМЕТИЛ)БЕНЗИЛ) АЦЕТАМИДИНА И СУБСТРАТА СИНТАЗЫ ОКСИДА АЗОТА L-АРГИНИНА НА ГЕПАТОТОКСИЧНОСТЬ АЛИЛОВОГО СПИРТА

Т.Я. Ярошенко

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

### Резюме

В статье рассмотрено одновременное угнетение индуцибельной формы фермента в гепатоцитах и стимуляции его конституционной формы в эндотелиальных клетках капилляров и синусоидов ткани печени. Утверждено, что эта комбинация препаратов будет эффективной в плане коррекции деструктивных изменений в печени при её поражении алиловым спиртом.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: оксид азота, алиловый спирт, ингибитор iNOS, L-аргинин, печень.

## EFFECT OF COMBINED APPLICATION OF INHIBITOR OF INDUCIBLE NO-SYNTAHASE N-(3-AMINOMETHYL) BENZYL) ACETAMIDE AND SUBSTRATE OF NITRIC OXIDE SYNTHASE L-ARGININE ON HEPATOTOXICITY OF ALLYL ALCOHOL

T.Ya. Yaroshenko

TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA.HORBACHEVSKY

### Summary

The simultaneous inhibition of inducible form of enzyme in hepatocytes and stimulation of its constitutional form in the endothelial cells of capillaries and sinusoids of liver. It is proved tissue has been considered in the article. That this combination of preparations will be effective concerning correction of destructive changes in a liver and at its damage by allyl alcohol.

KEY WORDS: nitric oxide, allyl alcohol, inhibitor of inos, L-arginine, liver.

Адреса для листування: Т.Я. Ярошенко, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м.Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

## КІНЕТИЧНІ ПАРАМЕТРИ ПЕРОКСИДАЗНОЇ АКТИВНОСТІ ГЕМОГЛОБІНУ (Hb) ТА ЙОГО КОМПЛЕКСУ З ГАПТОГЛОБІНОМ (Hr)

Ю.М. Федевич, О.Я. Склярів

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гемоглобін, гаптоглобін, пероксидаза.

**ВСТУП.** Відомо, що Hb характеризується меншою пероксидазною активністю, ніж його комплекс із Hr. Звичайно для отримання стійкого комплексу Hb з Hr очищені білки інкубують 30 хв. Проте необхідно відмітити, що за умов *in vivo* формування активності комплексу не відбувається відразу ж після первинного акту сполучення білків. Імовірно, спочатку формуються далекодіючі зв'язки, проте цього недостатньо для індукованих конформаційних перебудов, що визначають фізіологічну активність комплексу. За первинним актом з'єднання настає фаза формування коротких зв'язків, які ущільнюють комплекс та змінюють оточення гему, цим самим індукуючи активацію пероксидазної реакції комплексу. Метою нашої роботи було вивчення кінетичних параметрів пероксидазної активності Hb та його комплексу з Hr *in vitro*.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Пероксидазну активність визначали за методом Х.Н. Починок (1982) у модифікації М.В. Гончара (1987). Суміш для визначення пероксидазної активності готували за схемою: V мл Hb + (2 – V мл) H<sub>2</sub>O + 2 мл буфера (0,1 н ацетатний буфер, рН=5,3) + 0,5 мл розчину гваяколу (27 ммоль/л). У досліді в інкубаційну суміш вносили 0,5 мг Hr із розрахунку на 1 мл інкубаційної суміші, яка містила 0,5 мг Hb. Проводили інкубацію протягом 30 хв при 37 °С. Суміш переносили у спектрофотометричну кювету і спектрофотометрували проти такої ж суміші, яка служила контролем. Для ініціювання пероксидазної реакції у дослідну пробу вносили 0,5 мл 0,05 н H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, швидко перемішували, закривали кювету і проводили спектрофотометрування проти контролю. Реакцію починали із внесення пероксиду водню. У ході реакції спостерігали за змінами поглинання світла при  $\lambda=440$  нм за

допомогою спектрофотометра СФ-26 із приєднаним самописцем Н-39, швидкість руху діаграмної стрічки – 1 см/хв.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У результаті проведених досліджень після однохвилинної інкубації Hb з Hr пероксидазна активність суміші компонентів системи значно менша, ніж самого Hb. Так, якщо початкова швидкість реакції, що каталізується Hb без Hr, складає  $2,6 \times 10^{-3} \text{ с}^{-1}$ , то при додаванні до розчину Hb гаптоглобіну вона зменшується до  $1,5 \times 10^{-3} \text{ с}^{-1}$ . Отримані результати свідчать про те, що Hr здатний захищати гемоглобін від окиснення пероксидом водню лише після утворення міцного комплексу. На початкових стадіях формування комплексу при первинних етапах формування комплексу білкових молекул бокові групи амінокислотних залишків на поверхні молекули, а також залишків, що контактують з гемом, ще не екрановані частинами молекули Hr і швидко модифікуються пероксидом. Внаслідок модифікації спостерігається зниження активності. Разом із тим, у присутності Hr протягом усього експерименту (9 хв) крива не виходить на плато. Крім того, на 7-му хвилину інкубації має місце збільшення пероксидазної активності. Очевидно, це пов'язано з тим, що на 7-й хвилині в інкубаційному середовищі починають проявлятися захисні ефекти Hr і зростають пероксидазні властивості комплексу Hb з Hr.

**ВИСНОВКИ.** Захисний і стабілізуючий ефекти Hr на Hb проявляються не шляхом прямого екранування функціонально активних центрів Hb, а шляхом індукованих конформаційних перебудов у молекулі таким чином, що доступ окисника до гемових груп стає досить обмеженим. Формування пероксидазної активності комплексу Hb з Hr відбувається у дві стадії.

© Ю.М. Федевич, О.Я. Склярів 2006.

## ПОРУШЕННЯ ЕНЕРГЕТИЧНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ ДИХАННЯ МІТОХОНДРІЙ ПЕЧІНКИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ БРОНХООБСТРУКТИВНОМУ СИНДРОМІ РІЗНОГО СТУПЕНЯ ТЯЖКОСТІ

**В.І. Коржов, А.М. Алфьоров, В.М. Жадан,  
М.В. Коржов, М.Б. Фесенко, М.П. Будьонна**

*ІНСТИТУТ ФТИЗИАТРІЇ І ПУЛЬМОНОЛОГІЇ ІМ. Ф.Г. ЯНОВСЬКОГО АМН УКРАЇНИ*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **бронхолегенева патологія, мітохондрії, окиснювальне фосфорилування.**

У розвитку бронхолегеневої патології особливу роль відіграють порушення біоенергетичних функцій мітохондрій не тільки в легенях, але й в інших органах. У зв'язку з цим, становило інтерес вивчити окиснювальне фосфорилування в мітохондріях печінки при бронхообструктивному синдромі (БС) різного ступеня тяжкості й можливість корекції порушень, що відбуваються, за допомогою омега-3 поліненасичених жирних кислот (омега-3 ПНЖК).

Моделювання БС здійснювали шляхом сенсibiliзації білих безпородних щурів яєчним овальбуміном з наступною інгаляцією їх цим овальбуміном за допомогою ультразвукового інгалятора. Тварин забивали декапітацією під легким ефірним наркозом. Мітохондрії одержували методом диференційного центрифугування. Окиснювальне фосфорилування в мітохондріях вивчали полярографічним методом. Білок визначали методом Лоурі-Фоліна.

При БС легкого ступеня тяжкості вірогідно зменшувалися стосовно інтактних тварин

швидкість поглинання кисню мітохондріями в метаболічному стані 3 ( $V_3$  за Чансом), швидкість фосфорилування ( $V_p$ ) і величина коефіцієнта фосфорилування (АДФ/О). При БС середнього ступеня тяжкості відбувалося зниження всіх досліджуваних показників ( $V_2$ ,  $V_3$ ,  $V_4$ ,  $V_f$ , АДФ/О). БС тяжкого ступеня характеризувався ще більш істотними порушеннями функції дихального ланцюга.

Застосування омега-3 ПНЖК з профілактичною метою не сприяло відновленню функції дихального ланцюга. Разом із тим використання омега-3 ПНЖК із лікувальною метою сприяло реактивації функції дихального ланцюга, більш вираженої при БС легкого і середнього ступенів тяжкості, ніж при тяжкій формі захворювання.

Таким чином, при БС різного ступеня тяжкості відбувалися порушення біоенергетичних процесів у мітохондріях печінки.

Омега-3 ПНЖК як лікувальний засіб при даній патології можуть бути використані для регуляції функції електронтранспортного ланцюга мітохондрій печінки.

## АКТИВНІСТЬ ГЛУТАТІОНЗАЛЕЖНИХ ФЕРМЕНТІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ БРОНХООБСТРУКТИВНОМУ СИНДРОМІ

**В.М. Жадан, В.І. Коржов, А.М. Алфьоров, М.В. Коржов,  
М.Б. Фесенко, В.А. Вальтер, М.П. Будьонна**  
*ІНСТИТУТ ФТИЗІАТРІЇ І ПУЛЬМОНОЛОГІЇ ІМ. Ф.Г. ЯНОВСЬКОГО АМН УКРАЇНИ*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **бронхолегенева патологія, глутатіон, глутатіонтрансфераза, глутатіонредуктаза.**

У патогенезі бронхолегеневих захворювань важливе місце займають процеси вільнорадикального окиснення. Основна роль у контролі процесу накопичення продуктів перекисного окиснення ліпідів, а також функції захисту організму від токсичної дії хімічних речовин різної природи належить глутатіонзалежній ферментній системі, яка представлена відновленим глутатіоном і глутатіонзалежними ферментами: глутатіонредуктазою (ГР), глутатіонтрансферазою (ГТ), глутатіонпероксидазою (ГП). У зв'язку з цим, було вирішено вивчити в експерименті активність глутатіонзалежних ферментів при бронхообструктивному синдромі (БС) різного ступеня тяжкості.

Експериментальний БС у білих щурів викликали шляхом сенсibiliзації тварин розчином ліофілізованого яєчного овальбуміну з наступною ультразвуковою інгаляцією цим овальбуміном. Активність глутатіонзалежних ферментів визначали у цитозолі печінки та еритроцитах. Активність ГР визначали за методом J. Carlberg, ГТ – за методом W.H. Habig, ГП – за методом В.М. Моін.

Результати досліджень стану глутатіонової системи печінки і крові показали різнона-

правленість її змін залежно від ступеня тяжкості патології. БС легкого ступеня тяжкості призводив до вірогідного зниження активності ферменту ГТ у цитозолі печінки та підвищення активності ГР і ГП в еритроцитах порівняно з показниками контролю. При БС середнього ступеня тяжкості відбувалися зниження активності ГТ і підвищення активності ГР у цитозолі печінки, в еритроцитах встановлено достовірне зростання активності всіх трьох глутатіонзалежних ферментів (ГР, ГТ, ГП), що вказує на мобілізацію ендogenous антиоксидантних ресурсів. При БС тяжкого ступеня мали місце підвищення активності ГР і ГП у цитозолі та ГП в еритроцитах, зменшення активності ГТ в еритроцитах.

Таким чином, клінічний перебіг та ступінь тяжкості БС зумовлені не тільки міжорганными, але і біохімічними порушеннями. Глутатіонова система є чутливою ланкою при БС, і вірогідне підвищення активності ГР і ГП при всіх ступенях тяжкості БС можна розглядати як компенсаторну реакцію, спрямовану на детоксикацію пероксидів, що утворюються у великій кількості при патології легень і бронхів.



## ЗМІНА КОНЦЕНТРАЦІЇ ОКСИДУ АЗОТУ В ГЕПАТОЦИТАХ ЩУРІВ НА ФОНІ СТРЕСУ

Х.І. Порохнавець, Л.Є. Порохнавець, А.С. Кость  
Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

КЛЮЧОВІ СЛОВА: оксид азоту, мітохондрії, гепатоцити, NO-синтетаза.

**ВСТУП.** Оксид азоту (NO) як біорегулятор системної дії бере участь у фізіологічних та патологічних процесах. На внутрішній мембрані мітохондрій гепатоцитів експресується ген індукцибельної NO-синтетази, тому ці клітини продукують значну кількість NO у відповідь на системне запалення, стресові чинники, а це супроводжується змінами метаболічних процесів печінки, що, в свою чергу, порушує функціональний стан мітохондрій, які модифікують продукцію активних форм кисню. Вивчали залежність експресії концентрації NO<sub>2</sub><sup>-</sup> в мітохондріях і гомогенатах печінки щурів від тривалості і характеру дії стресу.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Експерименти проводили на 12 дорослих щурах контрольної групи і 18 дорослих щурах дослідної групи. Дослідна група складалась із тварин, на яких впливали стресовими факторами у штучних умовах. Щурів піддавали декапітації з використанням анестезії, а їх печінку використовували для дослідження. Визначали: 1) вміст NO<sub>2</sub><sup>-</sup> в гомогенатах печінки, виготовлених загальноприйнятим методом, промитих у фізіологічному розчині і механічно гомогенізованих у ступці; 2) концентрацію NO<sub>2</sub><sup>-</sup> в мітохондріях гепатоцитів, виділених з печінки щурів за методом Johnson D., Lardy H. (1967) в модифікації В.М. Коробова (2002). Стан системи NO оцінювали за допомогою діазореакції з реактивом Грісса з наступною спектрофотометрією шляхом визначення концентрації його стабільного метаболіту NO<sub>2</sub><sup>-</sup> за методом Green L.C., David A.W., (1982). Для статистичної обробки результатів використовували t-критерій Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Концентрація NO<sub>2</sub><sup>-</sup> в мітохондріях стресованих щурів перевищувала на 53 % контроль, а показники концентрації NO<sub>2</sub><sup>-</sup> в гомогенатах зросли на 22 %. Це свідчить про зниження функцій захисту антиоксидантної системи під впливом стресових чинників.

**ВИСНОВКИ.** В результаті проведених досліджень встановлено, що під впливом стресових факторів відбувається стимуляція синтезу NO за рахунок індукції NO-синтетази. При цьому гепатоцити виділяють значно більшу кількість NO, виконуючи стресопротекторну функцію.

**ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ КОНДЕНСОВАНИХ ПОХІДНИХ [1,2,4]-ТРИАЗИНОНІВ В УМОВАХ МОДЕЛЮВАННЯ НІТРОЗУЮЧОГО ТА ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ IN VITRO****І.Ф. Беленічев, В.В. Галиця, М.О. Круглікова, С.І. Коваленко**  
*ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: супероксидрадикал, цитокини, пероксинітрит, апоптоз.

Результати досліджень останніх десятиліть показали роль активних форм кисню в патогенезі ішемії головного мозку. Надмірне продукування активних форм кисню (супероксидрадикал, гідроксилрадикал, пероксинітрит, гіпохлорит-аніон) нейрохімічними, імунними, біоенергетичними системами (активація NMDA та AMPA-глутаматних рецепторів, метаболізм катехоламінів, експресія протизапалювальних цитокинів) призводить до окиснювальної модифікації макромолекул білка, ліпідів та нуклеїнових кислот, у подальшому – до загибелі клітин у гострий період, порушення виникнення і провідності нервового імпульсу, трансмембранних процесів, зниження зворотного охоплення медіатора, експресії генів раннього реагування, що у подальшому призводить до розвитку когнітивного дефіциту та ініціації апоптозу. Все це передбачає застосування антиоксидантів як засобів нейропротекції в лікуванні мозкових інсультів. У зв'язку із цим, є перспективним пошук анти-

оксидантів у ряді нового класу органічних сполук – похідних [1,2,4]-триазинонів. Дослідження антиоксидантної активності похідних [1,2,4]-триазинонів, відібраних за допомогою комп'ютерної програми "PASS C & T", проводили на моделях нітрозуючого та оксидативного стресу in vitro в гомогенаті кори мозку білих щурів. Нітрозуючий та оксидативний стрес моделювали шляхом додавання у гомогенати реактиву Фентона і нітрогліцериду натрію. Досліджувані речовини додавали в інкубаційну суміш в  $10^{-6}$  М. Ці сполуки позитивно діяли на антиоксидантні ферменти (ГПР і ГР), запобігаючи їх нітрозуючій та окиснювальній модифікації і нормалізуючи дискоординацію окиснювальних процесів, про що свідчить підвищення активності СДГ у дослідних пробах. При цьому похідні [1,2,4]-триазинонів гальмували окиснювальну модифікацію білка, знижуючи вміст альдегідних та карбонільних продуктів у пробах.

## ВПЛИВ ПРОЦЕСУ ЛІПОПЕРЕОКИСНЕННЯ НА ЛІКУВАННЯ І РЕАБІЛІТАЦІЮ ХВОРИХ НА РАК ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

**В.Н. Горбенко, І.Я. Цепілова, В.В. Бойко, Є.М. Климова, С.В. Сушков**  
*ІНСТИТУТ ЗАГАЛЬНОЇ І НЕВІДКЛАДНОЇ ХІРУРГІЇ АМН УКРАЇНИ*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **перекисне окиснення ліпідів, рак щитоподібної залози, дієнові кон'югати.**

**ВСТУП.** Вільнорадикальні реакції, що супроводжують процес перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), здатні модифікувати перебіг багатьох фізіологічних і патологічних процесів. Процес ПОЛ є одним із найважливіших механізмів підтримки гомеостазу, яким регулюються, зокрема, структура і функції клітинних мембран, їх доступність для регуляторних дій.

Мета дослідження – з'ясувати значення антиоксидантної терапії в лікуванні й реабілітації хворих на рак щитоподібної залози (РЩЗ).

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Обстежено 87 хворих на РЩЗ у віддалений період після комплексного лікування (від 1 до 16 років). Діагноз у всіх пацієнтів було верифіковано гістологічно. Вік хворих коливався від 34 до 65 років. На першому етапі лікування всім пацієнтам виконано хірургічне втручання. У всіх хворих вивчено вміст дієнових кон'югатів (ДК), малонового діальдегіду (МДА) і сумарну антиоксидантну активність (АОА) в пухлині й сироватці крові хворих. У 47 пацієнтів із РЩЗ у процесі лікування і реабілітації використовували антиоксиданти (вітаміни С й Е, а також препарати селену).

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Установлено, що у хворих на РЩЗ, у міру збільшення стадії захворювання, в пухлині відмічали

посилення процесів ліпопереокиснення. Ця залежність простежувалась у вигляді закономірності за рівнем ДК, а при III і IV ст. і за вмістом МДА. АОА при I і II ст. РЩЗ частково компенсувала токсичну дію продуктів ПОЛ. Однак, починаючи з III ст., процес ліпопереокиснення в пухлині продовжував посилюватися, причому АОА була пригніченою, що проявилось збільшенням вмісту продуктів ПОЛ у крові й, відповідно, впливом токсичних продуктів на всі органи і системи.

Приймання хворими на РЩЗ препаратів, що зменшують токсичну дію надлишкових продуктів ліпопереокиснення і підвищують антиоксидантну активність крові, дозволило швидше нормалізувати показники гомеостазу, значно порушеного основним захворюванням, перейти до наступного етапу комплексного лікування, а також швидше провести процес реабілітації хворих.

**ВИСНОВКИ.** При РЩЗ із збільшенням стадії захворювання в пухлині відмічається посилення процесу ліпопереокиснення, що проявляється накопиченням ДК і МДА та зниженням АОА. При лікуванні й реабілітації хворих на РЩЗ необхідно застосовувати комплекс антиоксидантних препаратів з метою нормалізації процесу ПОЛ, антиоксидантної системи, зниження інтоксикації та покращання результатів лікування.

## ЗМІНИ У СТРУКТУРІ ТА ФУНКЦІЯХ МІТОХОНДРІЙ ЛІМФОМНИХ КЛІТИН ПІД ЧАС ІНДУКЦІЇ АПОПТОЗУ

**Р.С. Стойка<sup>1,2</sup>, В.О. Камінський<sup>1,2</sup>, О.Р. Кулачковський<sup>2</sup>, Н.В. Крив'як<sup>2</sup>, М.Д. Луцик<sup>1</sup>**  
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ КЛІТИНИ НАН УКРАЇНИ<sup>1</sup>, ЛЬВІВ  
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ІВАНА ФРАНКА<sup>2</sup>

КЛЮЧОВІ СЛОВА: апоптоз, мітохондрії, цитохром С, сангвінарин, хелідонін.

Запрограмована загибель клітини (апоптоз) може реалізуватись двома основними шляхами, один з яких відбувається за посередництвом мітохондрій. "Мітохондріальний" шлях апоптозу контролюється білками родини Bcl-2, зміна у функціонуванні яких супроводжується виходом цитохрому с з мітохондрій у цитозоль, де цей білок сприяє індукції апоптозу. Для ініціації апоптозу лімфомних клітин людини було використано алкалоїди чистотілу – сангвінарин (С) та хелідонін (Хд). С та Хд не викликали змін у рівні антиапоптичного білка Bcl-2, локалізованого у мітохондріальній мембрані, проте індукували зростання рівня проапоптичного білка Bad. С та Хд проявляли різноскеровані ефекти на ізольовані мітохондрії, зокрема С суттєво інгібував процеси окисного фосфорилування у цих органелах, тоді як Хд не мав такої дії. Ці результати певною

мірою узгоджуються з даними електронно-мікроскопічного дослідження, які показали руйнування мітохондріальних крист лише під впливом С. Разом із тим, діючи на лімфомні клітини *in vitro*, Хд, як і С, індукував вихід цитохрому с у цитозоль, що вказує на можливість опосередкованої дії Хд на мітохондрії. На ранніх етапах дії (3 год) С на лімфомні клітини в останніх зменшувався вміст АТР, тоді як Хд індукував зростання вмісту АТР у цих клітинах. Під впливом С спостерігали швидке (3 год) зниження трансмембранного потенціалу лімфомних клітин.

Такий ефект було виявлено і під впливом Хд, проте на більш пізніх етапах (48 год) його дії. Використання С у високих концентраціях призвело до загибелі клітин шляхом некрозу, що може бути пов'язано з порушеннями у ланцюзі транспорту електронів.

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КОМПОЗИЦІЙНОГО ПРЕПАРАТУ "МАГНЕЛОНГ"

С.В. Горбачова, І.Ф. Беленічев, Н.В. Бухтіярова  
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **NO-синтаза, магнелонг, вільнорадикальне окиснення, окисна модифікація білків.**

Актуальним завданням сучасної фармакології є створення нових високоефективних засобів терапії мозкових інсультів як у гострий, так і в реабілітаційний період. Особливої уваги у цьому відношенні заслуговують препарати, що обмежують глутамат-кальцієву "ексайтотоксичність", активують власні біоенергетичні процеси та спрямовують їх у природному напрямку, нормалізують оксидантно-антиоксидантний гомеостаз. На основі вищесказаного нами була створена лікарська композиція "Магнелонг", яка містить у своєму складі іони магнію та нейроамінокислоти в оригінальному співвідношенні. Проведені дослідження показали, що призначення даної композиції щурам з порушеннями мозкового кровообігу за типом ішемічного інсульту гальмує в гострий період активність вільнорадикальних процесів у корі та гіпокампі. Так, у цей період відзначалось достовірне зменшення рівня альдегідних та карбоксильних продуктів окиснювальної мо-

дифікації білків, триенкетонів і малонового діальдегіду. Також спостерігалось зниження активності NO-синтази та продукції NO. У цей період спостереження відзначалось підвищення активності супероксиддисмутази та каталази. За силою антиоксидантної дії "Магнелонг" переважає пірацетам та гліцин. Вона достовірно (із 7 доби) знижувала ступінь неврологічного дефіциту у експериментальних тварин (тремор, птоз, обмеження рухів, досліджувальна активність і т. д.). Про це свідчить достовірне зниження балів за шкалою С.Р. McGrow. Введення магнелонгу спричиняло і зниження когнітивного дефіциту, на що вказує збереження (в 1,7 раза) пам'ятного сліду УРПУ.

Композиційна лікарська форма "Магнелонг" характеризується значними нейропротективними властивостями, які проявляються зменшенням летальності та неврологічної симптоматики, нормалізує біохімічні показники оксидативного стресу.

## ЗАЛЕЖНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ У РОТОВІЙ РІДИНІ УЧАСНИКІВ ЛІКВІДАЦІЇ НАСЛІДКІВ АВАРІЇ НА ЧАЕС ВІД НАЯВНОСТІ ПРОТЕЗНИХ КОНСТРУКЦІЙ

**Л.В. Завербна**

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

*Відомо, що при дії великих доз іонізуючого випромінювання (ІВ) антиоксидантні (АО) резерви швидко вичерпуються і розвивається вторинна, більш тривала активація перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Зміщення проантиоксидантної рівноваги, розвиток окиснювальної деструкції можуть відігравати провідну роль у патогенетичному ланцюзі променевого уражень різних органів і систем організму, зокрема пародонта.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **іонізуюче випромінювання, перекисне окиснення, антиоксиданти.**

Метою роботи було встановити залежність показників ПОЛ і системи АО-захисту в ротовій рідині від впливу ІВ та протезних конструкцій у віддалені терміни після опромінення.

Досліджено показники окиснювального гомеостазу в ротовій рідині ліквідаторів наслідків аварії на Чорнобильській АЕС (особи з дозовим навантаженням 0,5-2,0 Гр). Отримані результати вказують на зростання вторинної активації ПОЛ та дисбаланс у системі скоординованих ферментів – СОД і каталази у змішаній слині. Відзначено активацію одного з ферментів АО-захисту водночас з інгібуванням іншого залежно від наявності чи

відсутності протезних конструкцій у порожнині рота. Така активація вільнорадикальних реакцій у поєднанні з незбалансованою активністю системи АО-захисту може призвести до метаболічних розладів та пошкодження клітинних і внутрішньоклітинних мембран агресивними інтемедіатами.

Отже, внаслідок безпосереднього й опосередкованого впливу ІВ на тканини пародонта в них посилюються процеси ПОЛ. Стан продуктів ПОЛ та активність ферментів АО-захисту корелюють із вираженням уражень і додаткових подразників, таких, як протезні конструкції.

## АКТИВАЦІЯ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ У ПЕЧІНЦІ СИРІЙСЬКИХ ХОМ'ЯЧКІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ

Л.М. Вороніна, А.Л. Загайко, К.В. Стрельченко, Г.Б. Кравченко  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

КЛЮЧОВІ СЛОВА: метаболічний синдром, антиоксидантно-прооксидантний статус печінки, сирійські хом'ячки.

Метаболічний синдром (МС) – це комплекс гормональних та метаболічних порушень, які мають виражений проатерогенний характер. Розвиток оксидативного стресу розглядають як один з можливих механізмів виникнення окремих компонентів МС, зокрема інсулінорезистентності та системного запалення, при цьому зміни антиоксидантно-прооксидантного статусу окремих органів при МС залишаються до кінця не вивченими. Метою даного дослідження було вивчення деяких показників антиоксидантно-прооксидантного статусу печінки сирійських хом'ячків-самців різного віку (4 та 10 тижнів) з експериментальним МС, який спричинено вживанням висококалорійної дієти. Встановлено, що за умов експериментального МС у печінці відбувається активація процесів ПОЛ, про що свідчить зростання вмісту ТБК-активних продуктів, яке є більш вираженим у дорослих тварин (120 % відносно контролю та 175 % у хом'ячків віком 4 і 10 тижнів відповідно).

Це, очевидно, пов'язано зі зниженням у печінці дорослих тварин вмісту  $\alpha$ -токоферолу (76 % відносно контролю), тоді як у печінці молодих тварин зменшення вмісту цього антиоксиданта не спостерігається. У печінці хом'ячків, незалежно від віку, встановлено зниження рівня аскорбінової кислоти (50 та 55 % у молодих і дорослих тварин відповідно) та відновленого глутатіону (59 і 48 %). Останнє, імовірно, зумовлено зменшенням швидкості відновлення глутатіону в глутатіонредуктазній реакції за рахунок дефіциту НАДФН( $H^+$ ). На це вказує зниження активності глутатіонредуктази та глюкозо-6-фосфат дегідрогенази (основного постачальника НАДФН( $H^+$ ) у клітинах печінки).

Отримані дані свідчать про зниження активності антиоксидантної системи та активацію процесів ПОЛ у печінці сирійських хом'ячків з експериментальним МС, при цьому ці зміни є більш вираженими у тварин дорослого віку.

## ВПЛИВ ПРОДУКЦІЇ NO НА ПОВЕДІНКОВІ РЕАКЦІЇ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ ХРОНІЧНОГО ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ

І.Ф. Бєленічев, С.В.Павлов  
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

У ході досліджень останніх десятиріч встановлено, що хронічний іммобілізаційний стрес (ХІС) супроводжується гіперпродукцією стабільних метаболітів NO.

Метою наших досліджень було вивчення можливого впливу NO на поведінкові реакції щурів, які зазнали ХІС.

Дослідження виконано на 20 статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар. ХІС викликали жорсткою двогодинною іммобілізацією протягом 10 днів. Поведінкові реакції оцінювали за допомогою тесту "відкрите поле", а також за умовним рефлексом пасивного побігання (УРПП) через 10 днів стресування. Після вивчення поведінкових реакцій тварин декапітували під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг). У гомогенатах головного мозку за допомогою спектрофотометра визначали стабільні метаболіти NO.

Досліджено, що при ХІС збільшується на 67,8 % продукція стабільних метаболітів NO у головному мозку відносно інтактної групи

тварин. Встановлено, що підвищення концентрації стабільних метаболітів NO супроводжується змінами поведінкових реакцій. Указані зміни проявлялися зниженням орієнтовної активності щурів з ХІС у тесті "відкрите поле" ( $p < 0,05$ ). Вивчення УРПП свідчить про наявність когнітивного дефіциту в стресованих тварин. Так, латентний час заходу до темного відсіку через 24 год після навчання в інтактних тварин становив ( $198,8 \pm 5,8$ ) с, тоді як у щурів з ХІС – ( $55,4 \pm 5,1$ ) с.

На нашу думку, стабільні метаболіти NO є цито- та геномотоксичними, легко взаємодіють з білками та нуклеїновими кислотами, модифікують рецепторні структури та синаптичні трансмітери шляхом утворення міжмолекулярних зшивок у нейрональних клітинах. Указані зміни порушують білкові, ліпідні фрагменти мембран нейронів, що призводить до зменшення чутливості та специфічності рецепторів, погіршення генерації та утворення нервового імпульсу і, як наслідок, до розвитку когнетивно-мнестичного дефіциту.